

FERNANDO DE SOUZA

**INDUÇÃO DE OBESIDADE EM RATOS ATRAVÉS
DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO.
AVALIAÇÃO BIOMÉTRICA.**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau acadêmico de Mestre,
Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica,
do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Marchesini

Coordenador: Prof. Dr. Osvaldo Malafaia

CURITIBA

1999



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

PARECER CONJUNTO DA COMISSÃO EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DE
TESE/DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: **Fernando de Souza**

Título da Tese: **"MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE INDUZIDA EM
RATOS ATRAVÉS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO. AVALIAÇÃO
BIOMÉTRICA**

CONCEITOS EMITIDOS:

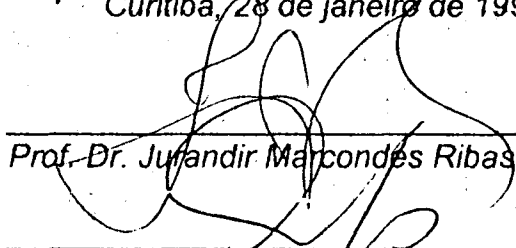
Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Fº - Conceito emitido *B* Equivalência *8,0*

Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos - Conceito emitido *B* Equivalência *8,0*


Prof. Dr. Cesar Luiz Boguszewski - Conceito emitido *B* Equivalência *8,0*

Conceito Final de Avaliação:

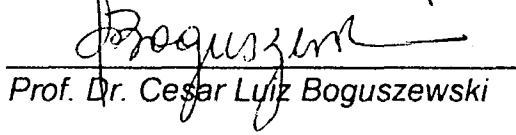
Aprovado com conceito B - Equivalência = 8,0.
Curitiba, 28 de janeiro de 1999



Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Fº



Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos



Prof. Dr. Cesar Luiz Boguszewski

Em memória de meu pai,

Sr. Waldemar de Souza

*Pioneiro na cidade de Maringá, norte do
Paraná, cujo sonho sempre fora um futuro
promissor para sua família.*

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor JOÃO BATISTA MARCHESINI, Professor Adjunto da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Cirurgia da UFPR, por todas as orientações e ensinamentos, pela amizade, pelo estímulo e pela paciência, exemplo de professor e cirurgião, minha eterna gratidão.

Ao Professor Doutor PAULO CÉZAR DE FREITAS MATHIAS, Professor Titular do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá (UEM), pela sua seriedade, amizade e orientação, exemplo de pesquisador.

Ao Professor MINAO OKAWA, Professor Assistente da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo e Gastroenterologia do Departamento de Medicina da UEM, pelo companheirismo, estímulo e dedicação, exemplo de cirurgião e professor.

Ao Professor CARLOS KAZUNORI TAKANO, Professor Auxiliar da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo e Gastroenterologia do Departamento de Medicina da UEM, pelo companheirismo e amizade, exemplo de austeridade e competência profissional.

Ao Professor Doutor OSVALDO MALAFAIA, Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Paraná e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, pelos seus ensinamentos, paciência e zelo, os quais foram fundamentais para minha formação cirúrgica. Exemplo de organização e dedicação. Minha eterna gratidão.

Aos Professores FERNANDO JORGE DE SOUZA e PAULO CESAR ANDRIGUETTO e Professores Doutores SÉRGIO BRENNER, FERNANDO HINTZ GRECA, ANTONIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS e JÚLIO CEZAR UILI COELHO, exemplos de profissionais e seres humanos, aos quais tenho profunda admiração e a quem devo minha formação cirúrgica. Minha sincera gratidão pela amizade e compreensão.

Aos Médicos e Funcionários do Grupo Centro Médico São Francisco e do Hospital Paraná, Maringá – PR., meus sinceros agradecimentos pela dedicação e colaboração.

Aos Médicos e Funcionários do Hospital Universitário de Maringá, em especial da Clínica Cirúrgica, meus sinceros agradecimentos.

Aos acadêmicos do Curso de Medicina da UEM (Universidade Estadual de Maringá), Helvécio Fernando P. Alves, Fernando J. Siroti, Orlando G. Monteiro e Fernando B. Ribeiro, pela ativa e responsável participação neste trabalho.

Aos Professores, Técnicos, Pós-Graduandos e Funcionários do Departamento de Biologia Celular e Genética da UEM, meus sinceros agradecimentos.

Aos estatísticos Ary Sabbag Jr. e Márcia Olandoski pelos estudos estatísticos, meus sinceros agradecimentos.

À minha esposa JOVITA MARIA MATAREZI DE SOUZA, à minha irmã, MARIA HELENA DE SOUZA e à minha querida mãe CLÓRIS MANOEL DE SOUZA, a quem tudo devo e sem as quais nada disto seria possível de realizar. Muito obrigado pela paciência, amor e carinho que, sempre, a mim dedicaram.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	Vii
RESUMO	Vii
ABSTRACT	Ix
1 INTRODUÇÃO	2
OBJETIVO	4
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 INDUÇÃO DA OBESIDADE EXPERIMENTAL.....	5
2.2 EFEITOS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO	8
2.2.1 Definição.....	8
2.2.2 Mecanismos de ação.....	8
2.2.3 Ação sobre o núcleo ventromedial hipotalâmico.....	10
2.2.4 Produção de hormônios liberadores.....	10
2.2.5 Efeitos no animal – síndrome induzida pelo M.S.G.....	11
2.2.6 Efeitos nos órgãos dos animais.....	11
2.2.7 Hormônio de crescimento (G.H.).....	12
2.2.8 Capacidade reprodutiva.....	13
2.2.9 Hipofagia e obesidade.....	14
2.2.10 Insulinemia e glicemia.....	16
2.2.11 Corticosteróides.....	17
2.2.12 Metabolismo protéico.....	17
2.2.13 Função tireoideana.....	17
2.2.14 Outros neurotransmissores.....	18
3 MATERIAL E MÉTODO	21
3.1 AMOSTRA	21
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
3.3 ETAPAS EXPERIMENTAIS	24

3.3.1 O experimento.....	24
3.3.2 Avaliação do experimento.....	25
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
4 RESULTADOS	27
5 DISCUSSÃO	35
6 CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Adrenocorticotropin hormone (Hormônio adrenocorticotrópico)
ARC	Arcuate nucleus (Núcleo arqueado)
CNA	Comprimento nasoanal
FSH	Follicle stimulating hormone (Hormônio folículo estimulante)
FSH-RH	Follicle stimulating hormone releasing hormone (Hormônio liberador do hormônio folículo estimulante)
GH	Growth hormone (Hormônio do crescimento)
GH-RH	Hormônio liberador do hormônio do crescimento
GTG	Gold thioglucose (Aureotioglucoose)
NLH	Núcleo lateral do hipotálamo
LH	Luteinizing hormone (Hormônio luteinizante)
LPL	Lipoprotein lipase (Lipase lipoproteica)
LH-RH	Luteinizing hormone releasing hormone (Hormônio liberador do hormônio luteinizante)
MSG	Monosodium glutamate (Glutamato monossódico)
NPY	Neuropeptide Y (Neuropeptídeo Y)
PVN	Paraventricular nucleus (Núcleo paraventricular hipotalâmico)
RNA	Ribonucleic acid (Ácido ribonucleico)
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
TRH	Thyrotropic releasing hormone (Hormônio tireotrópico)
UEM	Universidade Estadual de Maringá - Pr
VMH	Ventromedial hypothalamus (Núcleo ventromedial hipotalâmico)

RESUMO

A obesidade é importante problema médico na atualidade, com grandes repercussões epidemiológicas, no que concerne a risco para doenças como diabetes melito, coronariopatias, hipertensão arterial, dislipidemias e outras. Os modelos experimentais não são satisfatórios para aplicabilidade em seres humanos, pelo menos atualmente. O intuito deste trabalho é desenvolver o modelo experimental com o objetivo de induzir obesidade com glutamato monossódico (MSG), modelo este que poderá servir para outras pesquisas sobre obesidade. Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Celular da Secreção do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá, Maringá - Pr. Foram utilizados 52 ratos *Wistar* machos, divididos em dois grupos de 26 ratos cada. Grupo I, submetido a injeção de solução salina; Grupo II, submetido a injeção de glutamato monossódico (MSG). O glutamato monossódico a 24% foi injetado até aos cinco dias de vida do animal, na região cervical posterior, uma vez ao dia na dose de 4 mg/g de peso corporal. A solução salina a 12,5% foi injetada da mesma forma no grupo controle na dose de 1,25 mg/g de peso corporal. Não foram observadas alterações no local das injeções. A avaliação dos animais foi realizada aos 30 dias de vida, com obtenção de peso e comprimento nasoanal. Mensurou-se o índice de Lee, que é a razão entre a raiz cúbica do peso e o comprimento nasoanal (CNA). O índice de Lee é um índice de massa corpórea utilizada em roedores. Aos 30 dias, os resultados obtidos foram: Grupo I – Índice de Lee de $289,94 \pm 11,57$, peso de $80,37 \pm 19,98$ g e CNA de $14,81 \pm 1,27$ cm; Grupo II – Índice de Lee de $296,98 \pm 7,50$, peso de $72,50 \pm 11,06$ g e CNA de $14,01 \pm 0,80$ cm. Baseados na análise estatística com “t de Student”, observou-se que o Grupo II apresentou maior índice de Lee, portanto maior acúmulo de gordura corporal, e menor CNA, com significância estatística ($p < 0,05$), quando comparados com o Grupo I. Em relação ao peso não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos ($p = 0,0873$). Concluiu-se que a indução da obesidade com injeção de MSG, em ratos, na fase neonatal é factível.

ABSTRACT

Nowadays, the obesity is an important medical and epidemiological problem, which is related to an increased risk for diseases like diabetes mellitus, coronary diseases, hypertension, dyslipidemia, among other chronic disorders. At the present time, there are no available experimental animal models that are applicable to human-being. The purpose of this work is to develop an experimental animal model inducing obesity with monosodium glutamate (MSG), which might be useful in other researches in human obesity. This work was performed at Cellular Biology of Secretion Laboratory in Department of Cellular Biology and Genetics, Maringa State University. Fifty-two male Wistar rats were used, divided into two groups of twenty-six animals each. Group I received saline solution and Group II received MSG. The 4 mg/g body weight MSG 24% solution dose was injected until the fifth day after the animals were born, in the posterior cervical region, once a day. The 1.25 mg/g body weight saline 12.5% solution dose was injected in the same way. In the injected regions no adverse reaction was observed. The evaluation of the animals was performed on the thirtieth day, based on weight, nasoanal length and Lee index. Lee index is a weight cubic root and nasoanal length ratio, that was used like an obesity index in rodents. On the thirtieth day, the results were: Group I - Lee index 289.94 ± 11.57 , weight 80.37 ± 19.98 g and nasoanal length 14.81 ± 1.27 cm; Group II - Lee index 296.98 ± 7.50 , weight 72.50 ± 11.06 g and nasoanal length 14.01 ± 0.80 cm. Statistic analysis was performed by the Student's *t* test. Lee index was significantly greater in Group II than in Group I and nasoanal length was significantly smaller in Group II than in Group I. Body weight was similar in both Groups. It was possible to verify that Group II had success in the inducement of obesity when compared to Group I. In conclusion, we could induce obesity in rats with neonatal injection of MSG.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade (do latim *obesus*, *ob* = muito, *edere* = comer) é definida como aumento da quantidade de gordura corporal, considerada uma doença universal de prevalência crescente e de caráter epidêmico em muitas comunidades. Na sociedade moderna pode ser considerada o principal problema de saúde pública (HALPERN & MANCINI, 1996).

O meio de classificação mais utilizado é o índice de massa corpórea, que é o peso (em quilogramas) dividido pela altura (em metros) elevada ao quadrado, considerando-se normal até 25 Kg/m², excesso de peso entre 25 e 30 Kg/m², obesidade leve entre 30 e 35 Kg/m², obesidade moderada entre 35 e 40 Kg/m², obesidade mórbida entre 40 e 50 Kg/m² e hiperobesidade acima de 50 Kg/m². Em 1995, a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu que valores acima de 110% indicam sobrepeso, valores acima de 120% indicam obesidade e acima de 140% indicam obesidade mórbida (HALPERN & MANCINI, 1996; SICHIERI, 1998). Estes valores são determinados em comparação ao peso relativo, que é a relação percentual entre o peso atual do indivíduo e o peso populacional de menor morbimortalidade calculado a partir de tabelas preestabelecidas.

Podem ser utilizados outros métodos para diagnosticar e mensurar a obesidade, como a medida de pregas cutâneas, densitometria, impedância bioelétrica, tomografia computadorizada, ressonância magnética e outros (HALPERN & MANCINI, 1996; SICHIERI, 1998).

As pessoas obesas apresentam maior risco de diabete melito, doença cardiovascular e dislipidemias, principalmente na obesidade central, e risco maior de complicações ortopédicas e vasculares periféricas, principalmente na obesidade periférica. Esta diferenciação de distribuição da gordura corpórea pode ser obtida pelo índice cintura-quadril (HALPERN & MANCINI, 1996; PEREIRA, 1998).

A redução do peso corporal e da massa gordurosa propicia a redução do risco de aparecimento de morbidades associadas a obesidade e de complicações delas advindas.

O mecanismo do desenvolvimento da obesidade é muito complexo e entender por que a obesidade ocorre não é tarefa fácil. É mais simples entendê-la como desequilíbrio entre o consumo alimentar e gasto energético. Sempre que o consumo for maior do que o gasto, ocorrerá depósito na forma de gordura, resultando em obesidade (SICHIERI, 1998).

Quanto aos determinantes da obesidade, a singela hipótese do consumo alimentar exacerbado, encontra o questionamento da variabilidade de gasto energético em uma população. Existe indubitável importância da influência genética na obesidade. Muitos genes apontados neste mecanismo estariam afetando o consumo de energia, o seu gasto ou a sua distribuição para o tecido adiposo e a massa livre de gordura. Além disto, o envolvimento de hábitos alimentares, condições ambientais, socioculturais e sedentarismo participariam de forma importante na gênese e evolução da obesidade (SICHERI, 1998).

Desta forma, para evolução do conhecimento dos complexos mecanismos que interferem na gênese e desenvolvimento da obesidade, há necessidade de estudos experimentais. Do ponto de vista experimental, existe notável evolução, com estudo de várias drogas e receptores específicos no encéfalo, citando como exemplo a leptina.

A administração neonatal de altas doses de glutamato monossódico (MSG) (Aji no moto®) a roedores e outras espécies, induz a lesões no sistema nervoso central (SNC), em grande parte restritos ao núcleo arqueado do hipotálamo (ARC) e à retina (ZHANG et al., 1994; TANAKA et al., 1978; SILVA, 1995; SCALLET & OLNEY, 1986)

O MSG acumula-se preferencialmente no ARC após administração neonatal, mas não se concentra de forma importante em outras áreas do encéfalo após administração parenteral.

O ARC é conhecido pela alta concentração de neurotransmissores e também de hormônios liberadores hipofisiotróficos e a lesão desta região na fase neonatal implica em efeitos na função neuroendócrina (REMKE et al., 1988; MARMO et al., 1994; NEMEROFF et al., 1977; NEMEROFF et al., 1978; MISKOWIAK & PARTIKA, 1993; HIRATA et al., 1997; KUBOTA et al., 1994; DePAOLO & STEGER, 1985).

O MSG pode ser utilizado como instrumento de investigação do envolvimento do ARC na função neuroendócrina.

Tais lesões hipotalâmicas e suas conseqüências na função neuroendócrina após o tratamento com MSG, na fase neonatal, foram descritas por alguns autores (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a ; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b) .

Estes resultados não foram confirmados por outros (ADAMO & RATNER, 1970; NAKAMURA, 1975; REYNOLDS et al., 1971).

Estas diferentes opiniões podem ser explicados por diferentes dosagens, horários de administração, vias de administração e espécies animais utilizadas.

Existem vários métodos experimentais de indução de obesidade em diversas espécies. O importante fato em comum em todos os modelos de obesidade induzida por lesão hipotalâmica é a presença da hiperinsulinemia de jejum, em função da hiperatividade parassimpática do sistema nervoso autônomo (SNA), mediada através do nervo vago, causando hipersecreção pancreática de insulina (SILVA, 1995).

Na grande maioria dos modelos experimentais de obesidade, os animais são hiperfágicos. Existe, entretanto, um modelo experimental de obesidade, em que o animal é hipofágico quando comparado ao controle. Este modelo é o da obesidade induzida pelo MSG.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é verificar se a administração do glutamato monossódico em ratos, na fase neonatal, induz obesidade e alterações biométricas aos 30 dias.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INDUÇÃO DA OBESIDADE EXPERIMENTAL

A primeira descrição de lesão hipotalâmica associada a obesidade foi publicada por MOHR em 1840, citado por Bray e York, 1979. Posteriormente, FROHLICH em 1900 e BABINSKI em 1901, descreveram tumores na região hipotalâmica que estavam associados a obesidade, atrofia de glândulas, redução na acuidade visual, aumento de pressão intracraniana e baixa estatura, conhecida como síndrome adiposogenital, que foi melhor estudada em cães e gatos em 1939 (BRAY & YORK, 1979).

Os estudos experimentais com animais iniciaram-se com SMITH, em 1927, que demonstrou que a remoção da pituitária sem lesão do hipotálamo não produzia obesidade e que a lesão do hipotálamo com injeções de ácido crômico, mesmo com a pituitária íntegra, estava associada a obesidade (BRAY & YORK, 1979).

Em 1939, HETHERINGTON & RANSON documentaram que lesões eletrolíticas restritas a região do núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH), bilateralmente, poderiam estar associadas a obesidade. Vários trabalhos seguiram-se a este, enfatizando a importância do componente da hiperfagia nesta obesidade (BRAY & YORK, 1979).

O hipotálamo passou a ser reconhecido como determinante no equilíbrio entre ingestão alimentar e necessidades calóricas do organismo. Dentre os vários núcleos hipotalâmicos, destacaram-se o VMH e o núcleo lateral do hipotálamo (NLH). O VMH passou a ser considerado como o “centro da saciedade” e o NLH como o “centro da fome”.

A hiperatividade do nervo vago passou a ter importância marcante na obesidade etiológicamente ligada a alterações hipotalâmicas.

A utilização do MSG na indução da obesidade, foi mais utilizada por OLNEY a partir de 1969 (BRAY & YORK, 1979).

A partir da década de 1980, vários trabalhos a respeito de novos neurotransmissores a nível de SNC, como neuropeptídeo Y e, na década de 1990 a leptina, passaram a ser objetos de vários estudos.

Existem diferentes modelos experimentais para estudar-se a obesidade e, para tanto, podem ser utilizadas diversas espécies animais, como roedores, gatos, cães, coelhos, galinhas, macacos e até seres humanos (KING & FROHMAN, 1982, BRAY & YORK, 1979).

Os modelos mais utilizados são os provocados por lesões hipotalâmicas, principalmente do VMH e núcleos adjacentes, através de lesão eletrolítica, por radiofrequência (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a ; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b), por remoção mecânica (GOLD et al., 1980) ou quimicamente por drogas. Dentre as drogas, pode-se utilizar bipiperidil-mostarda (SCALLET & OLNEY, 1986), MSG, norepinefrina (GOLD et al., 1980), nitroquinolina, aureotioglucoose (GTG), insulina, corticosteróides, ciproheptadine ou fenotiazina (BRAY & YORK, 1979).

Também podem ser utilizados vários modelos geneticamente obesos de ratos e camundongos (SILVA, 1995; BRAY & YORK, 1979).

Pode-se obter obesidade através de dieta hipercalórica via oral ou intragástrica, administrando-se dietas extremamente palatáveis aos roedores (SCLAFANI, 1987; SNOWDON & EPSTEIN, 1970; BRAY & YORK, 1979).

Existem os modelos endócrinos, obtidos por ooforectomia bilateral em ratas (GOLD et al., 1980), por administração excessiva de glucocorticóides em *hamsters*, provocando-se hipotireoidismo ou provocando-se deficiência de hormônio do crescimento (GH) (BRAY e YORK, 1979).

Nos modelos em que existe algum tipo de lesão no SNC, observa-se que o principal mecanismo da obesidade é a hiperinsulinemia de jejum (INOUE & BRAY, 1977), com normoglicemia, com hiperfagia presente ou não, acompanhado de aumento da massa de tecido adiposo e alteração na resposta das ilhotas pancreáticas isoladas à glicose e a neurotransmissores (SILVA, 1995).

Sugere-se que o mecanismo de obesidade mediado pelo nervo vago, através de hiperinsulinemia, apesar de não ser exclusivo, é muito importante (KING & FROHMAN, 1982).

A participação do SNA nestes modelos experimentais é muito importante. As catecolaminas inibem a secreção de insulina e a estimulação elétrica do nervo vago ou administração de agentes colinérgicos potencializam a secreção de insulina estimulada por glicose (SILVA, 1995; SMITH & PORTE, 1976).

O funcionamento do SNA em ratos altera-se pela lesão bilateral do VMH, levando a redução da mobilização de ácidos graxos sob estresse (INOUE & BRAY, 1977) e aumento da secreção de insulina, induzida por substratos, mediada pelo nervo vago. A lipólise ao nível do tecido adiposo marrom está diminuída pelo bloqueio do SNA simpático e pela ação da hiperinsulinemia (ROHNER-JEANRENAUD et al., 1992; JEANRENAUD, 1985). A lipogênese está estimulada, sendo uma das causas da obesidade. Em ratos, lesão bilateral do VMH, causa hipoatividade do SNA simpático e hiperatividade vagal e, conseqüentemente, hiperinsulinemia (BRAY, 1991; ROHNER-JEANRENAUD et al., 1983; ROHNER-JEANRENAUD & JEANRENAUD, 1985). Além disto, estes animais com lesão do VMH apresentam aumento nos reflexos da digestão, melhorando a eficiência digestiva e absorviva (KING & FROHMAN, 1982).

KING propõe que não mais que 40% do ganho de peso na obesidade induzida pelo hipotálamo seja devido a insulinemia mediada pelo nervo vago (KING & FROHMAN, 1982).

SCLAFANI (1981) sugere que a hiperinsulinemia seja conseqüência e não causa da hiperfagia.

Lesão bilateral do VMH causa síndrome de obesidade, hiperinsulinemia e hiperfagia. Quando promove-se lesão apenas nas áreas próximas ao ARC, como por exemplo com MSG, não há hiperfagia (SCALLET & OLNEY, 1986).

O componente de hiperfagia depende do ARC e VMH, que controlam a saciedade (SCALLET & OLNEY, 1986; KING & FROHMAN, 1982).

A síndrome da obesidade tem duas fases, a primeira dinâmica caracterizada por aumento de ingestão alimentar e rápido ganho de peso e a segunda, estática, caracterizada por ingestão alimentar próxima a habitual e com manutenção da obesidade acumulada (KING & FROHMAN, 1982).

A explicação mais aceita pela literatura, para a maior adiposidade destes animais e até no homem em algumas circunstâncias, é a hipertonia parassimpática vagal com hiperinsulinemia e hiperfagia.

2.2 EFEITOS DO MSG (GLUTAMATO MONOSSÓDICO)

2.2.1 Definição

O MSG é uma das formas do aminoácido dicarboxílico, L-glutamato. É amplamente utilizado na culinária como condimento alimentar, como substituto do sal e composição de vários produtos alimentares, além de ser componente de várias drogas (BÉTRAN et al., 1992; FRIEDER & GRIMM, 1984).

O MSG pode ser utilizado, experimentalmente, como aminoácido citotóxico (neurotoxina) (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993). Quando injetado, na fase neonatal, em ratos e camundongos, produz uma síndrome com alterações endócrinas e metabólicas, caracterizada, basicamente, por redução do crescimento corporal e obesidade (SILVA, 1995; DAWSON et al., 1997; KANAREK & MARKS-KAUFMAN, 1981; CAMERON et al., 1978; HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986).

2.2.2 Mecanismo de ação

AÇÃO NEUROTÓXICA

Quanto mais jovens os ratos, mais sensíveis aos efeitos neurotóxicos do MSG (SERESS, 1982).

Quando o MSG é administrado para o animal, na água ingerida, durante a fase pré-natal, em especial na segunda e terceira semanas de gestação, ele atravessa a barreira placentária e atua da mesma maneira em sua prole (FRIEDER e GRIMM, 1984).

Os efeitos são devidos a picnose e intumescimento celular, causando a destruição de 80% a 90% dos neurônios da região do ARC (SILVA, 1995; SCALLET & OLNEY, 1986; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b; SERESS, 1982; NASCIMENTO CURI et al., 1991; RIBEIRO et al., 1989; NEMEROFF et al., 1978; FRIEDER & GRIMM, 1984; NEMEROFF et al., 1977; FISHER et al., 1991; MISKOWIAK & PARTYKA, 1993; SHAPIRO et al., 1986; DAWSON et al., 1997; DOLNIKOFF et al., 1988; KUBOTA et al., 1994; TANAKA et al., 1978), eminência média (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b; TANAKA et al., 1978), área postrema do hipotálamo, retina (NEMEROFF et al., 1978; FISHER et al., 1991;

SHAPIRO et al., 1986), nervo óptico (OTOYA et al., 1996), giro denteado do hipocampo (FISHER et al., 1991) e região pré-óptica (TANAKA et al., 1978). Desta forma, quando injetado na fase neonatal, altera o funcionamento normal do eixo pituitário-hipotalâmico do animal (SILVA, 1995).

Portanto, ocorre a destruição parcial do sistema tuberoinfundibular colinérgico e dopaminérgico do hipotálamo.

A região do ARC mais atingida se localiza na sua parte anterior, que está ao nível do VMH. Em ratos, a parte anterior do ARC corresponde a 55% do total de neurônios do referido núcleo. Os neurônios MSG sensíveis são dopaminérgicos, observando-se importante redução dos níveis de dopamina no hipotálamo medial-basal. Apesar da parte posterior do ARC ser constituída por neurônios dopaminérgicos, esta não é afetada pelo MSG (SERESS, 1982).

Sugere-se que o aminoácido glutamato seja o mais importante neurotransmissor excitador no hipocampo, na córtex, no cerebelo e no hipotálamo (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993).

O MSG administrado na fase neonatal não lesa apenas o ARC (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b). Existem neurônios que são mais resistentes ao glutamato neurotóxico e esta diferença seria devido a diferentes tipos de receptores, diferentes sistemas mensageiros secundários ou diferentes níveis de ativação de canais iônicos (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993).

Entretanto, a destruição do ARC pelo MSG leva a redução de concentração de substância P e substância K no núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN) (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993).

Observou-se alterações significativas no exame histológico à microscopia eletrônica da eminência média. O ARC é o maior contribuinte neuronal para a eminência média (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b).

Anatômica e funcionalmente o ARC apresenta muitas conexões. O maior controle dos neurônios parvicelulares hipotalâmicos sobre a pituitária deve-se a produção, nesta área, dos hormônios liberadores, que se projetam na eminência média e deste ponto até o plexo capilar portal cerebral (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b).

Os resultados de OTOYA et al., em 1996, sugerem que os efeitos do MSG a nível de receptores do ácido *N*-methyl-D-aspartico (NMDA) de áreas do hipotálamo e áreas adjacentes participam nas alterações de comportamento e resposta neuroendócrina anormal de roedores.

2.2.3 Ação sobre o núcleo ventromedial hipotalâmico

O VMH é considerado um dos centros controladores do metabolismo das gorduras (ZHANG et al., 1994). Quando lesado pelo MSG, pode-se constatar redução de termogênese e lipólise a nível de tecido gorduroso marrom (YOSHIOKA et al., 1991).

O MSG também afeta cerca de dois terços ventrais do VMH, além do ARC e outros núcleos adjacentes em camundongos (TANAKA et al., 1978; YOSHIOKA et al., 1991).

Ratos injetados com MSG na fase neonatal, apresentam redução do ácido ribonucleico (RNA) nas células do VMH, com 12 semanas de vida, indicando que a obesidade pode ser devido a hipofunção das células do VMH (ZHANG et al., 1994) e redução do número de células neste núcleo (SUN et al., 1991). As oscilações do RNA indicam atividade funcional destas células. A atividade do VMH está inversamente relacionada a deposição da massa gordurosa.

Por outro lado, mensurando-se RNA nas células do NLH e na região cortical do cérebro, não se observa correlação com a gordura corporal (ZHANG et al., 1994).

Ratos desnutridos na fase neonatal, apresentam importante decréscimo da massa gordurosa e aumento de RNA nas células do VMH (ZHANG et al., 1994).

2.2.4 Produção de hormônios liberadores

Sugere-se que o ARC seja o local de produção do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LH-RH) e hormônio liberador do hormônio folículo estimulante (FSH-RH). O hormônio tireotrópico (TRH) é encontrado no ARC, além de outros centros. Desta forma, o ARC torna-se importante na regulação da função gonadal pituitária e, pelo menos parcialmente, na regulação pituitária-tireóide (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b).

As células nervosas do ARC que produzem hormônio liberador do hormônio do crescimento (GH-RH) são destruídas pelo MSG na fase neonatal (DAWSON et al., 1997).

Nos ratos injetados com MSG, observa-se concentrações normais de TRH, LH-RH e somatostatina no cérebro, e concentrações normais de neurotransmissores no hipotálamo, como a norepinefrina, serotonina e ácido glutâmico descarboxilase. Nestes mesmos animais, observa-se níveis reduzidos, no ARC e eminência média, de colina-acetiltransferase e dopamina (NEMEROFF et al., 1978).

2.2.5 Efeitos no animal – síndrome induzida pelo MSG

Os ratos injetados com MSG apresentam síndrome constituída de excessiva adiposidade, hipoatividade (REMKE et al., 1988; SILVA, 1995; ZHANG et al., 1994; DOLNIKOFF et al., 1988; BETRÁN et al., 1992; REMKE et al., 1991), decréscimo no comprimento nasoanal (CNA) (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993; DOLNIKOFF et al., 1988), redução de massa protéica (RIBEIRO et al., 1989), automutilação da cauda e redução em massa de glândulas endócrinas e hipotireoidismo (SERESS, 1982; NASCIMENTO CURI et al., 1991; NEMEROFF et al., 1977; NEMEROFF et al., 1978).

Estes animais não são hiperfágicos, pelo contrário, ora são normo ora são hipofágicos (KANAREK & MARKS-KAUFMAN, 1981), apresentam baixo peso corporal e reduzida massa muscular (REMKE et al., 1988; SILVA, 1995; ZHANG et al., 1994).

Alguns autores não observaram menor peso nos ratos tratados com MSG quando comparados com os do grupo controle (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993).

Camundongos tratados com MSG na fase neonatal apresentam índice de Lee aumentado aos 30, 60 e 90 dias de vida, aumento da adiposidade, hiperinsulinemia e normoglicemia de jejum quando comparados com os do grupo controle (CAMERON et al., 1978).

2.2.6 Efeitos nos órgãos dos animais

Em ratos injetados com MSG, o peso absoluto e relativo de vários órgãos como pituitária, fígado, coração, baço, pâncreas e adrenais estão reduzidos (SILVA, 1995; REMKE et al., 1988; DOLNIKOFF et al., 1988; SCLAFANI, 1987). Ocorre o contrário nos ratos com lesão do VMH, onde observa-se aumento no peso de vários órgãos, como fígado, pâncreas,

intestino delgado e intestino grosso (KIBA et al., 1991; SILVA, 1995), pois não há alteração no metabolismo protéico e, além disto, estes animais são hiperfágicos.

Não há hiperplasia ou hipertrofia de ilhotas pancreáticas (SILVA, 1995).

Observou-se que adrenais de camundongos tratados com MSG não são afetadas (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b; NEMEROFF et al., 1978).

Observou-se que, em camundongos tratados com MSG, o desenvolvimento dos órgãos, em relação ao peso, evolui de três formas diferentes. O primeiro grupo de órgãos, coração, pulmões, baço, pâncreas, rins, testículos, cérebro e glândulas submandibulares, permaneceram abaixo do peso em relação ao controle durante o crescimento do animal. O segundo grupo de órgãos, fígado e estômago, permaneceram abaixo do peso até 12 semanas de vida e passaram a peso semelhante ao controle após 16 semanas de vida, sendo que o fígado torna-se infiltrado de gordura nesta fase. O terceiro grupo de órgãos, gordura epididimal, intestino delgado e cólon, permaneceram abaixo do peso, em relação ao grupo controle, até 4 semanas de vida e tornaram-se mais pesados que os do grupo controle depois de 8 semanas de vida (HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986).

O intestino delgado dos camundongos evolui com hipoplasia das criptas até 4 semanas de vida e após 8 semanas apresenta-se com hiperplasia e hipertrofia crescentes das criptas (HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986). Também existe maior atividade das enzimas dissacaridases jejunais (YOSHIOKA et al., 1991). Estas observações sugerem a grande capacidade digestiva e absorptiva destes animais e o baixo gasto energético, principalmente hepático, colaborando, também, para o desenvolvimento da obesidade nestes roedores (HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986).

Em camundongos, observa-se que o pico sérico do MSG injetado ocorre em 60 minutos e retorna aos níveis anteriores em 6 a 8 horas. Desta forma, a supressão da atividade proliferativa celular dos órgãos dos animais não ocorre por ação tóxica direta pelo MSG, mas por distúrbio do sistema hipófise-hipotalâmico (HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986).

2.2.7 Hormônio de Crescimento

Os níveis circulantes de GH, sua secreção basal e pulsátil, apresentam-se reduzidos (DOLNIKOFF et al., 1988; MISKOWIAK & PARTYKA, 1993; KANAREK & MARKS-

KAUFMAN, 1981; SHAPIRO et al., 1986; DePAOLO & STEGER, 1985; MAITER et al., 1991), bem como o GH-RH, o que explicaria a redução do tamanho do esqueleto do animal (KANAREK & MARKS-KAUFMAN, 1981; KUBOTA et al., 1994).

Nos ratos injetados com MSG na fase neonatal, observam-se níveis diminuídos de somatostatina no ARC e eminência média, e níveis aumentados de somatostatina no pâncreas e antro gástrico (DePAOLO & STEGER, 1985).

Shapiro sugere que além da deficiência de GH haveria insensibilidade irreversível da célula alvo ao GH (SHAPIRO et al., 1993).

2.2.8 Capacidade Reprodutiva

Os ratos injetados com MSG apresentam diminuição na capacidade reprodutiva, com redução do peso de pituitária anterior (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993), gônadas, útero e próstata (DOLNIKOFF et al., 1988).

Os camundongos injetados com MSG apresentam ovários e testículos diminuídos. Apesar disto, a capacidade reprodutiva dos camundongos machos não é significativamente afetada (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b).

Em ratos, na observação histológica, os ovários, testículos e pituitária são normais. Constatou-se comportamento sexual normal, mas as fêmeas eram inférteis (SERESS, 1982).

SHAPIRO observou redução do volume de adrenais e gônadas mais intensamente nas fêmeas do que nos machos. Apesar disto, constatou-se que estes animais eram férteis (SHAPIRO et al., 1986).

Os níveis de prolactina, hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) são normais (DOLNIKOFF et al., 1988; KUBOTA et al., 1994), com discreta redução de estradiol e testosterona (KUBOTA et al., 1994). Nos ratos machos tratados com MSG pode-se observar níveis de prolactina séricos elevados (NEMEROFF et al., 1978; DOLNIKOFF et al., 1988) ou normais (DOLNIKOFF et al., 1988).

Estes ratos apresentam níveis de esteróides gonadais diminuídos (DOLNIKOFF et al., 1988).

2.2.9 Hipofagia e Obesidade

Alguns autores constataram que os ratos injetados com MSG são normofágicos, não observando-se hipofagia em relação aos ratos do grupo controle. A impressão dos autores é que a obesidade destes ratos é metabólica e não decorrente do aumento da ingestão alimentar (NEMEROFF et al., 1977).

Constatou-se que os ratos injetados com MSG consomem menos proteínas, mais carboidratos e semelhantes quantidades de gordura, quando comparados aos do grupo controle (KANAREK & MARKS-KAUFMAN, 1981).

Os ratos injetados com MSG podem sobreviver por mais de 21 dias quando alimentados exclusivamente com água, em contraste com os ratos do grupo controle que vivem no máximo 9 dias em tais condições (RIBEIRO et al., 1989). A reserva lipídica retroperitoneal dos ratos injetados com MSG começa a diminuir apenas a partir do sexto dia de jejum absoluto, sendo que nesta fase, os ratos do grupo controle perderam muito mais reserva lipídica que os ratos injetados com MSG. Estes conseguem manter altos níveis de lipídeos no fígado, mesmo no jejum. Isto permite sobrevivência prolongada em função das reservas lipídicas (RIBEIRO et al., 1989).

Os ratos machos na fase adulta, injetados com MSG no período neonatal, apresentam aumento da lipogênese no fígado, retroperitônio e testículos. A lipogênese pode ser diminuída sob administração de Triton WR 1339, um inibidor da enzima lipase lipoproteica (LPL) (NASCIMENTO CURI et al., 1991).

Há maior acúmulo de gordura nos camundongos injetados com MSG, mais acentuadamente nas fêmeas (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b).

Em fêmeas de ratos observa-se aumento da lipogênese apenas nos ovários e no retroperitônio. Não há aumento da lipogênese no fígado e não há resposta ao uso de inibidor da LPL (NASCIMENTO CURI et al., 1991).

Portanto, há uma resposta dependente do sexo do animal no desenvolvimento da obesidade induzida pelo MSG (NASCIMENTO CURI et al., 1991).

O acúmulo de gordura deve-se ao aumento da síntese de ácidos graxos (lipogênese “de novo”) e a reduzida mobilização de gorduras (NASCIMENTO CURI et al., 1991). Existe uma atividade aumentada da LPL no retroperitônio e gônadas dos ratos, sendo que, apenas nos

ratos machos observa-se aumento da atividade da LPL no fígado (NASCIMENTO CURI et al., 1991; MARMO et al., 1994).

Em ratos, a obesidade induzida pelo MSG na fêmea é mais intensa que no macho, devido a decréscimo no peso e na atividade ovariana e, conseqüentemente, a provável redução dos níveis de estrogênios (NASCIMENTO CURI et al., 1991; NEMEROFF et al., 1977).

Existe susceptibilidade maior dos ratos machos, em relação às fêmeas, ao MSG, observando-se lesão neuronal mais intensa e abrangente, com mais intensa hipofagia (SUN et al., 1991).

Observa-se hipertrofia celular do tecido adiposo de gônadas e retroperitônio dos ratos machos injetados com MSG, caracterizando obesidade do tipo hipertrófico (NASCIMENTO CURI et al., 1991; OCHI et al., 1988).

Em ratos injetados com MSG, a capacidade termogênica do tecido adiposo marrom e a taxa metabólica basal estão diminuídos (REMKE et al., 1988; SILVA, 1995; BETRÁN et al., 1992), devido a menor atividade simpática neste tecido (ARNDT et al., 1991; SILVA, 1995), também constatado em camundongos injetados com MSG (YOSHIOKA et al., 1991).

Também observa-se hipertrigliceridemia nos ratos com obesidade induzida pelo MSG (ZHANG et al., 1994; DAWSON et al., 1997; CHIKAMORI et al., 1977), além de maior nível de ácidos graxos livres no plasma (CHIKAMORI et al., 1977). A composição da gordura dos ratos tratados com MSG, demonstra uma redução na razão ácido linoleico/ ácido palmítico, muito similar aos efeitos da insulina. Tais alterações não são afetadas pela ingestão alimentar ou hipofisectomia. Todas estas alterações estão diretamente correlacionadas com o grau de obesidade e peso da gordura epididimal (CHIKAMORI et al., 1977; MARMO et al., 1994).

Observa-se hiperinsulinemia por aumento da secreção de células β das ilhotas pancreáticas (CHIKAMORI et al., 1977; BERTHOUD & JEANRENAUD, 1979), que estão associadas a atividade lipogênica e da LPL em ratos com obesidade induzida pelo MSG (YOSHIOKA et al., 1991).

2.2.10 Insulinemia e glicemia

Ocorre hiperatividade colinérgica hipotalâmica, aumentando a tonicidade vagal, induzindo a alterações secretórias no pâncreas, com hiperinsulinemia de jejum e obesidade (SILVA, 1995; CHIKAMORI et al., 1977). Observa-se aumento de 20% da atividade da enzima acetil colinesterase nos homogeneizados de fígado e pâncreas de camundongos injetados com MSG aos 30, 60 e 90 dias de vida, o que indica maior atividade colinérgica no pâncreas, principalmente nas ilhotas pancreáticas que são mais inervadas que o tecido acinoso (SILVA, 1995). ATEF et al., em 1992 e em 1995, também demonstraram aumento do fluxo sanguíneo nas ilhotas pancreáticas de ratos obesos com lesão hipotalâmica, mediada por fibras colinérgicas vagais.

Ocorre insulinemia basal mais alta (SCLAFANI, 1987; HIRATA et al., 1997), apesar de normoglicemia, que é uma característica da fase estacionária da obesidade, quando os adipócitos atingem um diâmetro de 100 μm , e, assim, tendem à resistência à insulina (SILVA, 1995; REMKE et al., 1988; SCLAFANI, 1987).

Na obesidade, a hiperinsulinemia tem importante papel na hipersensibilidade à própria insulina (SCLAFANI, 1987). Apesar do certo grau de resistência periférica à insulina, ainda existe hipersensibilidade à mesma, pelo menos *in vitro*, que sobrepuja a resistência e é importante na gênese da obesidade (MARMO et al., 1994).

Estas alterações estão presentes, também, nos ratos com lesão bilateral do VMH (CAMPFIELD & SMITH, 1983; ZHANG et al., 1994).

Em camundongos, no tecido gorduroso branco, tecido gorduroso marrom, músculo esquelético e coração há redução dos receptores GLUT 4, sugerindo que a obesidade induzida pelo MSG esteja vinculada à modulação deste receptor em todos os tecidos sensíveis à insulina, explicando a resistência à insulina estimulada pela glicose e hiperinsulinemia compensatória (MACHADO et al., 1994; PAPA et al., 1997). Em camundongos obesos pelo MSG, com perda de peso por restrição alimentar e conseqüente redução da massa gordurosa branca e marrom, observa-se aumento do conteúdo de receptores GLUT 4 e melhora da sensibilidade à insulina por parte destes tecidos (PAPA et al., 1997).

A estimulação do nervo vago promove aumento na concentração de insulina circulante em ratos, gatos e porcos. Este efeito pode ser bloqueado pela atropina em ratos, bloqueando-se os receptores muscarínicos, o que não acontece em gatos e porcos (MILLER, 1981).

GLUCAGON

Nos ratos injetados com MSG, observa-se níveis séricos de glucagon normais (NEMEROFF et al., 1978).

2.2.11 Corticosteróides

Ratos injetados com MSG na fase neonatal apresentam níveis basais de corticosteróides elevados (HIRATA et al., 1997; DAWSON et al., 1997), principalmente durante o período diurno (DOLNIKOFF et al., 1988; KUBOTA et al., 1994), apesar dos níveis normais de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b; SHAPIRO et al., 1986). Os níveis elevados de corticosterona são dependentes dos níveis de ACTH (DOLNIKOFF et al., 1988), e não responsivos ao efeito supressivo de injeção de dexametasona, sugerindo comprometimento do eixo pituitário-hipotalâmico na regulação da função da glândula supra-renal (DOLNIKOFF et al., 1988).

2.2.12 Metabolismo Protéico

Os ratos injetados com MSG quando submetidos ao jejum e alimentados exclusivamente com água, apresentam maior retenção nitrogenada quando comparados com os ratos do grupo controle, otimizando a utilização de proteínas, com um menor nível plasmático de uréia, corroborando menor neoglicogênese hepática a partir de substratos protéicos (RIBEIRO et al., 1989; BETRÁN et al., 1992).

2.2.13 Função Tireoideana

Observou-se redução dos níveis hormonais na glândula tireóide dos ratos injetados com MSG (DOLNIKOFF et al., 1988; NEMEROFF et al., 1977) e constatou-se maior peso de glândula tireóide nos ratos injetados com MSG que nos controle. Apesar de que o índice colóide, estroma e epitélio / colóide não são diferentes do controle (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993).

HORMÔNIO TIREOTRÓPICO (TRH)

O TRH é produzido pelo PVN e este não é destruído pelo MSG (MISKOWIAK e PARTYKA, 1993), sugerindo-se que o MSG afeta o eixo pituitário-tireóideo de forma não intensa, pois os níveis de hormônios tireóideos séricos nem sempre estão diminuídos (DOLNIKOFF et al., 1988; MISKOWIAK & PARTYKA, 1993; KUBOTA et al., 1994).

2.2.14 Outros Neurotransmissores

Os ratos injetados com MSG apresentam reduzidos níveis hipotalâmicos de neuropeptídeo Y (NPY), β endorfina e dopamina (DAWSON et al., 1997).

O NPY e β endorfina são estimuladores de ingestão alimentar. A sua depleção nos ratos injetados com MSG pode explicar a hipofagia destes animais (DAWSON et al., 1997).

NEUROPEPTÍDEO Y

O NPY é o mais importante neurotransmissor cerebral, encontrado no ARC e no PVN. A síntese de NPY no ARC é inibida pela insulina. Aumento da atividade do NPY no ARC está associado a redução na produção de GH, TRH, prolactina e glucocorticóides (FRANKISH et al., 1995).

O NPY injetado no PVN induz hiperfagia, redução no gasto energético, obesidade e hiperinsulinemia (FRANKISH et al., 1995; SAINSBURY et al., 1997; ROHNER-JEANRENAUD, 1995), provocando aumento da lipogênese hepática, maior atividade da LPL e maior captação de glicose pelo adipócito (ROHNER-JEANRENAUD, 1995). A hiperinsulinemia é mediada pelo nervo vago, pois a vagotomia troncular previne a hiperinsulinemia basal e hiperinsulinemia induzida pela glicose. O NPY injetado no ventrículo cerebral propicia aumento dos níveis de ACTH e corticosterona nos primeiros dois dias de infusão, normalizando-se em 4 a 6 dias depois de cessada a infusão (SAINSBURY et al., 1997).

A injeção central de NPY propicia efeitos no trato gastrointestinal, como aumento na secreção de suco gástrico e bile (SAINSBURY et al., 1997).

Acredita-se em sua importância na regulação do balanço energético e metabólico e pode ser encontrado em hipotálamos humanos (FRANKISH et al., 1995).

LEPTINA

A leptina é uma proteína secretada por adipócitos e tem um importante papel na regulação do apetite e adiposidade. É o sinal periférico para o hipotálamo para regulação do metabolismo energético. Há indícios da presença de receptores de leptina no ARC do hipotálamo. Ratos Sprague-Dawley obesos injetados com MSG apresentam elevados níveis de leptina (DAWSON et al., 1997).

A leptina pode suprimir o ganho de peso, depósito de gordura corporal e perigônadas, além da ingestão alimentar noturna em ratos normais, mas não afeta os ratos injetados com MSG. O efeito sobre a perda de peso nos ratos controle ocorreu, neste estudo, de forma cumulativa (DAWSON et al., 1997).

Implante de minibombas osmóticas de leptina em ratos ocasionaram significativa redução do peso do fígado, baço e coração, e nos níveis do fator de crescimento insulina-símile I, o que não ocorreu nos injetados com MSG (DAWSON et al., 1997).

A administração de leptina não afeta os níveis de insulinemia dos ratos injetados com MSG, mas reduz a insulinemia nos ratos controle (DAWSON et al., 1997).

A leptina pode participar da mobilização de gordura através de receptores localizados no ARC. Os ratos injetados com MSG com elevados níveis de leptina circulantes desenvolvem obesidade intensa (DAWSON et al., 1997).

A leptina pode suprimir o apetite através da inibição da ação ou da síntese do NPY. Postula-se a existência de um receptor com RNA mensageiro para leptina no hipotálamo como potencial local de ação da mesma (DAWSON et al., 1997).

Existe a possibilidade de alteração da regulação do nível de adiposidade mediada pela leptina, através da destruição dos receptores de leptina ao nível de ARC, atenuando o *feedback* gerado pela leptina circulante, explicando o mecanismo de ação do MSG (DAWSON et al., 1997).

A inabilidade dos ratos injetados com MSG para responder a leptina, pode estar relacionada a destruição dos neurônios GH-RH do ARC. Como o GH é lipolítico, a redução do GH e da supressão do fator de crescimento insulina-símile I poderia contribuir para a deposição de gordura nos ratos injetados com MSG (DAWSON et al., 1997).

A supressão do apetite, a perda de peso corporal e a redução do depósito de gordura mediada pela leptina, podem ser todas atenuadas pelo tratamento com MSG. Isto também ocorre na administração de GTG, que por sua vez, causa lesão do VMH e porção dorsal do

ARC. Com estes fatos, corrobora-se a hipótese de que os principais receptores de leptina localizam-se na porção dorsal do ARC, pois o MSG causa mínimas alterações no VMH. Sabendo-se que o MSG também lesa outras estruturas circunventriculares, não descarta-se a possibilidade de ação da leptina nestes centros (DAWSON et al., 1997).

Como no animal injetado com MSG já existe redução do NPY, este mecanismo pode inibir, total ou parcialmente, ainda mais o apetite. A explicação para isto, seria a ação da leptina, em receptores poupados pela lesão causada pelo MSG (DAWSON et al., 1997).

É possível que a administração exógena de leptina ou a leptina endógena secretada pelos adipócitos, não seria efetiva na redução da ingestão alimentar e peso corporal nos animais injetados com MSG, pois não haveria receptores íntegros para a leptina atuar a nível de hipotálamo, mais especificamente no ARC (DAWSON et al., 1997).

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 AMOSTRA

Número total de animais: 52

Espécie e linhagem: *Rattus norvegicus* de linhagem *Wistar* do próprio Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá.

Sexo: macho.

Idade: 5 dias de vida, para indução da obesidade.

Peso: acompanhamento ponderal.

Local da experimentação: Laboratório de Biologia Celular da Secreção do Departamento de Biologia Celular e Genética - Centro de Ciências Biológicas e Centro de Ciências da Saúde - Universidade Estadual de Maringá - Maringá - Pr.

Condições de alojamento: adequados ao delineamento experimental (RIBEIRO et al., 1995; DeLUCA et al., 1996).

Instituição: Biotério Setorial do Departamento de Biologia Celular e Genética.

Período de adaptação: Foram utilizados para experimentação, ratos recém-nascidos de uma mesma linhagem. Os acasalamentos, na proporção de um macho para quatro fêmeas, foram realizados no próprio biotério, aguardando-se o período de gestação, que é de 21 a 25 dias (SERESS, 1982). Após o nascimento, cada rata lactante permaneceu com apenas 6 filhotes, com o objetivo de garantir maior capacidade lactotrófica para a ninhada, por um período de 21 dias após o nascimento. Foram aproveitados na ninhada, o maior número possível de filhotes machos.

Condições de confinamento:

Tipo e dimensões da gaiola: padrão do Biotério Setorial do Departamento de Biologia Celular e Genética.

Número de animais por gaiola: 1

Período de luz cíclico de 12 horas (claridade das 7:00 hs às 19:00 hs).

Ambiente: arejado.

Controle de temperatura : 23 ± 2 °C.

Ambiente: sem ruídos.

Umidade: relativa do ar, nos limites padronizados pelo biotério

Condições nutricionais:

Administração “ad libitum” de ração comercial Purina® e água.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos:

Grupo I - injeção de solução salina hiperosmótica (n=26)

Grupo II - injeção de glutamato monossódico (MSG) (n=26)

Os animais obtidos, ratos machos, foram produtos dos acasalamentos no biotério. Os ratos do grupo II foram submetidos a injeções subcutâneas de MSG na concentração de 24%, com 240 mg por ml de solução, na região cervical posterior, uma vez ao dia, nos primeiros 5 dias de vida, na dose de 4mg/g de peso corporal.

Os ratos do grupo I foram submetidos a injeções subcutâneas de solução salina na concentração de 12,5%, com 125 mg por ml de solução, nos mesmos locais e com a mesma frequência, na dose de 1,25 mg/g de peso corporal. O peso e o CNA dos animais foram registrados aos 30 dias de vida, para o cálculo do índice de Lee, que é a razão da raiz cúbica do peso corporal (em gramas) sobre extensão nasoanal (em centímetros) multiplicado por 1000, conforme fórmula abaixo:

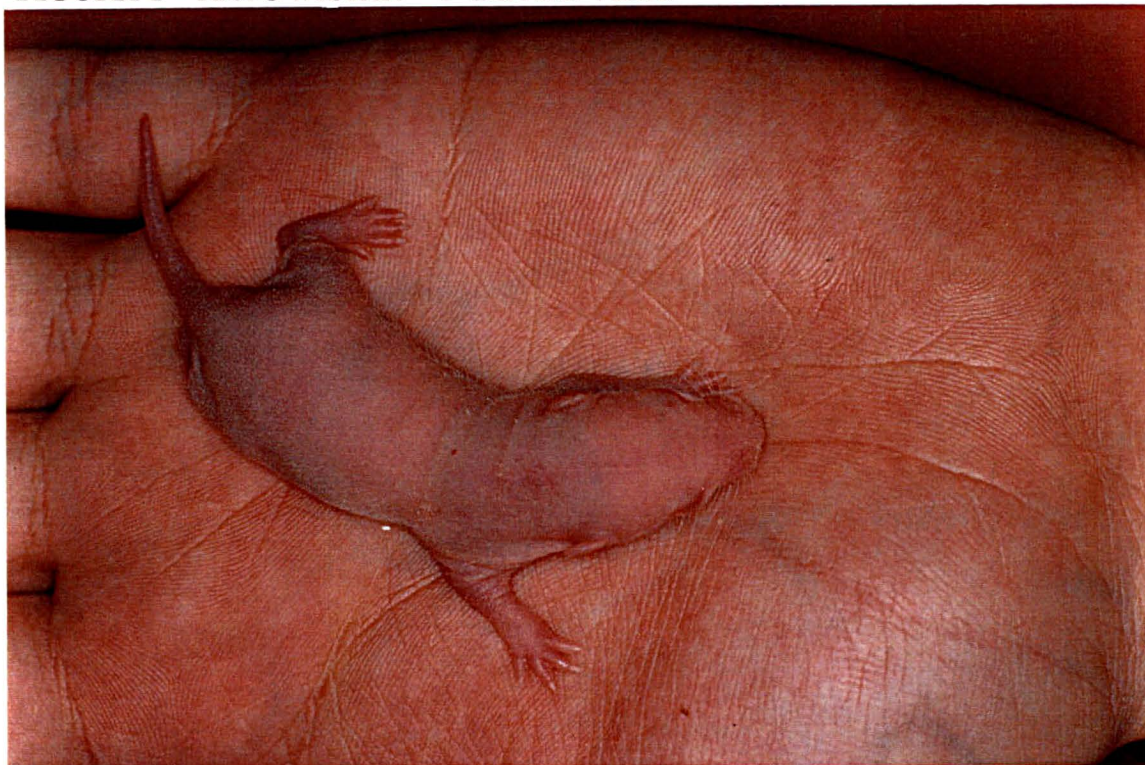
$$\frac{\sqrt[3]{\text{peso}}}{\text{CNA}} \times 1000$$

3.3 ETAPAS EXPERIMENTAIS

3.3.1 O experimento

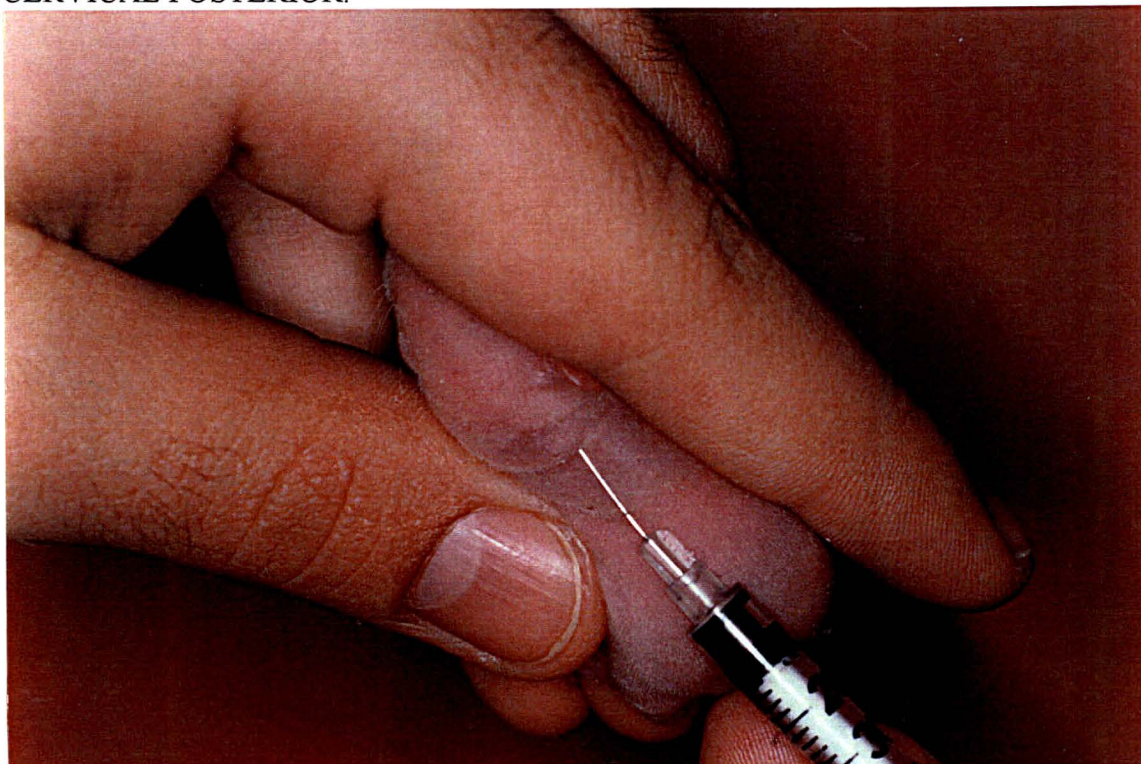
Os animais foram submetidos a pesagem em balança com graduação em gramas imediatamente antes da injeção, ou seja, no primeiro dia de vida e novamente no trigésimo dia. Peso entre 5 e 7 g no primeiro dia de vida foi utilizado como fator de inclusão, sendo que os animais fora deste parâmetro foram excluídos do estudo. (Figura 1). Estes animais não foram submetidos a medida de CNA e índice de Lee.

FIGURA 1 – RATO *WISTAR* - 1º DIA DE VIDA.



Os animais foram submetidos a injeção de MSG e de solução salina hiperosmótica de acordo com a divisão dos respectivos grupos (Figura 2).

FIGURA 2 – RATO *WISTAR* SENDO SUBMETIDO A INJEÇÃO NA REGIÃO CERVICAL POSTERIOR.



Aos 30 dias de vida, foram realizadas os registros de peso, CNA e índice de Lee.

O CNA foi facilmente medido por um único examinador, com os animais anestesiados e com uma régua milimetrada específica para esta mensuração.

3.3.2 Avaliação do Experimento

Foram feitas as comparações evolutivas pelo peso e CNA e obtenção do índice de Lee.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como média seguido de desvio padrão, e adotou-se o “t de Student” para as devidas avaliações. Em todos os testes adotou-se um nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

Os pesos, as dosagens e volumes de injeção dos animais do grupo I, injetados com solução salina, estão representados na tabela 1. Observa-se que o peso dos ratos no 1º dia de vida variou de 5,4 g a 7,0 g, com a média e desvio padrão de $6,34 \pm 0,43$ g. A dose de solução salina utilizada por dia variou de 7,0 mg a 9,0 mg, com média e desvio padrão de $7,73 \pm 0,72$ mg, perfazendo volume de injeção entre 0,05 ml a 0,07 ml, com a média e desvio padrão de $0,0573 \pm 0,0072$ ml.

Observou-se que os ratos deste grupo no 1º dia de vida apresentaram pesos semelhantes, necessitando dosagens e volumes semelhantes de solução salina para realização do estudo.

TABELA 1 – GRUPO I – SOLUÇÃO SALINA – PESO NO 1º DIA DE VIDA, DOSE E VOLUME INJETADOS

Rato	Peso 1º dia (g)	Dose (mg)	Volume (ml)
1	6,3	7	0,05
2	6,2	8	0,06
3	7,0	9	0,07
4	6,7	8	0,06
5	6,6	8	0,06
6	6,9	9	0,07
7	6,0	7	0,05
8	6,3	7	0,05
9	6,9	9	0,07
10	6,5	8	0,06
11	6,4	8	0,06
12	6,6	8	0,06
13	6,7	8	0,06
14	6,5	8	0,06
15	6,1	7	0,05
16	5,8	7	0,05
17	6,0	7	0,05
18	6,1	7	0,05
19	6,0	7	0,05
20	5,4	7	0,05
21	6,4	8	0,06
22	5,9	7	0,05
23	5,5	7	0,05
24	6,5	8	0,06
25	6,7	8	0,06
26	7,0	9	0,07
M = $6,34 \pm 0,43$ g		M = $7,73 \pm 0,72$ mg	M = $0,0573 \pm 0,0072$ ml

Os pesos, as dosagens e volumes de injeção dos animais do grupo II, injetados com MSG, estão representados na tabela 2. Observa-se que o peso dos ratos no 1º dia de vida variou de 5,7 g a 7,0 g, com a média e desvio padrão de $6,44 \pm 0,41$ g. A dose de MSG utilizada por dia variou de 23 mg a 28 mg, com média e desvio padrão de $24,88 \pm 1,75$ mg, perfazendo volume de injeção entre 0,09 ml a 0,12 ml.

Observou-se que os ratos deste grupo no 1º dia de vida apresentaram pesos semelhantes, necessitando dosagens e volumes semelhantes de solução de MSG para realização do estudo.

TABELA 2 – GRUPO II – GLUTAMATO MONOSSÓDICO – PESO NO 1º DIA DE VIDA, DOSE E VOLUME INJETADOS

Rato	Peso 1º dia (g)	Dose (mg)	Volume (ml)
1	6,4	24	0,10
2	6,4	24	0,10
3	6,8	27	0,11
4	6,7	24	0,10
5	6,7	24	0,10
6	6,9	27	0,11
7	6,8	27	0,11
8	6,8	27	0,11
9	7,0	28	0,12
10	6,4	24	0,10
11	6,5	24	0,10
12	6,6	24	0,10
13	6,8	27	0,11
14	6,3	24	0,10
15	6,0	24	0,10
16	5,8	23	0,09
17	6,2	24	0,10
18	6,1	24	0,10
19	5,7	23	0,09
20	6,0	24	0,10
21	6,4	24	0,10
22	5,8	23	0,09
23	5,8	23	0,09
24	7,0	28	0,12
25	7,0	28	0,12
26	6,6	24	0,10
M = $6,44 \pm 0,41$ g		M = $24,88 \pm 1,75$ mg	M = $0,1026 \pm 0,0087$ ml

Na tabela 3 estão representados o índice de Lee, peso e CNA dos ratos do grupo I, injetados com solução salina, aos 30 dias de vida. Observou-se que o índice de Lee variou de 268,60 a 326,53, com média e desvio padrão de $289,94 \pm 11,57$. O peso dos animais variou de 46 g a 127 g, com média e desvio padrão de $80,37 \pm 19,98$ g e o CNA variou de 12,5 cm a 17,4 cm, com média e desvio padrão de $14,81 \pm 1,27$ cm. (Figura 3)

TABELA 3 - GRUPO I – SOLUÇÃO SALINA – ÍNDICE DE LEE, PESO E CNA AOS 30 DIAS DE VIDA.

Rato	Índice de Lee	Peso	CNA
1	286,64	46,0g	12,5cm
2	270,42	78,0g	15,8cm
3	268,60	75,0g	15,7cm
4	285,84	71,2g	14,5cm
5	298,53	77,8g	14,3cm
6	304,31	66,3g	13,3cm
7	294,65	70,2g	14,0cm
8	300,68	74,6g	14,0cm
9	306,49	127 g	16,4cm
10	285,16	118 g	17,2cm
11	294,72	115 g	16,5cm
12	285,78	83,6g	15,3cm
13	286,62	89,4g	15,6cm
14	326,53	68,0g	12,5cm
15	280,21	63,0g	14,2cm
16	290,52	59,0g	13,4cm
17	285,51	56,0g	13,4cm
18	282,79	81,0g	15,3cm
19	280,37	80,5g	15,4cm
20	295,09	83,3g	14,8cm
21	284,83	69,0g	14,4cm
22	294,03	77,5g	14,5cm
23	284,25	121 g	17,4cm
24	289,43	70,9g	14,3cm
25	291,26	88,5g	15,3cm
26	285,35	80,0g	15,1cm
M= 289,94±11,57		M = 80,37±19,98g	M = 14,81±1,27cm

Observou-se que, por exemplo, o rato 1 apresentou peso (46 g) baixo em relação a média e também CNA (12,5 cm) abaixo da média. Como outro exemplo, o rato 23 apresentou peso (121 g) elevado em relação a média e também CNA (17,4 cm) acima da média.

Observou-se, desta forma, variação relativamente ampla de peso e CNA dentro deste grupo.

FIGURA 3 – RATO WISTAR INJETADO COM SOLUÇÃO SALINA-AOS 30 DIAS DE VIDA.



Na tabela 4 estão representados o índice de Lee, peso e CNA dos ratos do grupo II, injetados com MSG, aos 30 dias de vida. Observou-se que o índice de Lee variou de 280,92 a 307,30, com média e desvio padrão de $296,98 \pm 7,50$. O peso dos animais variou de 57,10 g a 96 g, com média e desvio padrão de $72,50 \pm 11,06$ g e o CNA variou de 12,6 cm a 15,6 cm, com média e desvio padrão de $14,01 \pm 0,80$ cm (Figura 4).

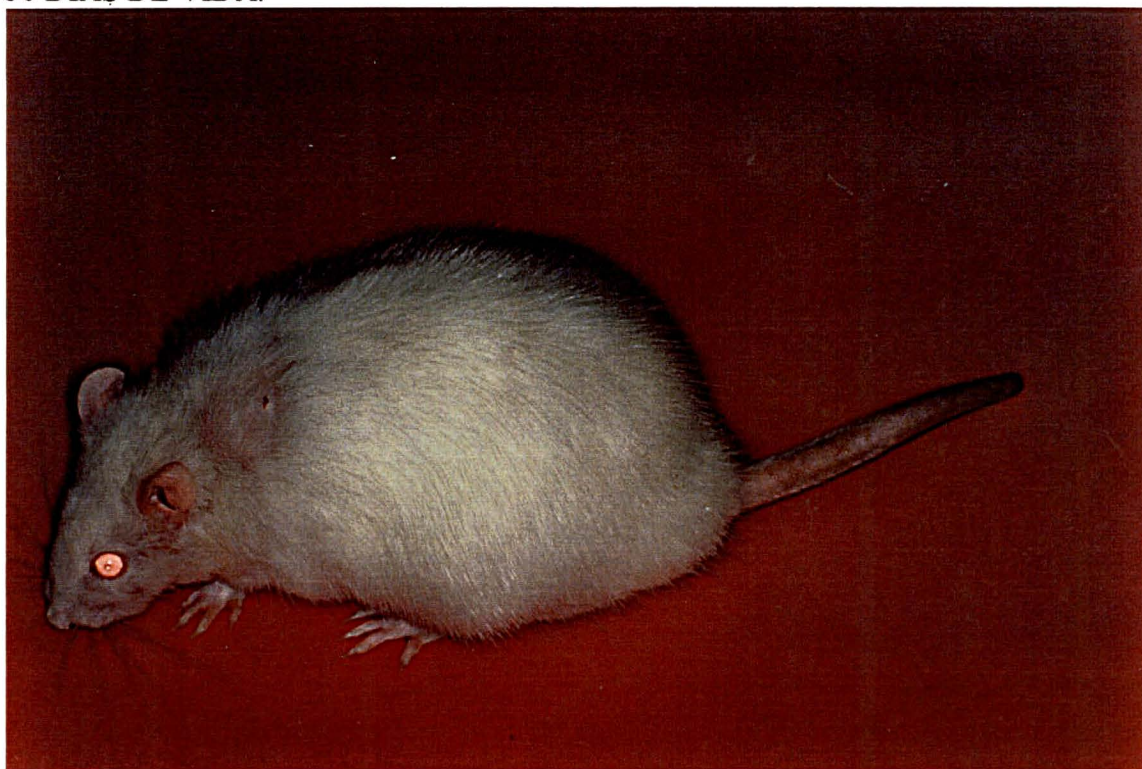
TABELA 4 - GRUPO II – GLUTAMATO MONOSSÓDICO (MSG) – ÍNDICE DE LEE, PESO E CNA AOS 30 DIAS DE VIDA

Rato	Índice de Lee	Peso	CNA
1	291,00	90,0g	15,4cm
2	297,16	80,0g	14,5cm
3	307,30	73,0g	13,6cm
4	302,03	74,0g	13,9cm
5	302,37	77,5g	14,1cm
6	301,90	73,9g	13,9cm
7	280,92	69,0g	14,6cm
8	297,15	72,0g	14,0cm
9	298,50	57,1g	12,9cm
10	302,77	62,4g	13,1cm
11	290,71	63,2g	13,7cm
12	292,42	71,6g	14,2cm
13	283,03	75,0g	14,9cm
14	289,38	92,0g	15,6cm
15	302,58	88,0g	14,7cm
16	301,24	96,0g	15,2cm
17	303,80	82,0g	14,3cm
18	306,13	67,5g	13,3cm
19	300,43	79,3g	14,3cm
20	296,03	57,0g	13,0cm
21	282,86	69,0g	14,5cm
22	287,04	72,1g	14,5cm
23	301,27	54,7g	12,6cm
24	297,75	58,0g	13,0cm
25	301,76	63,2g	13,2cm
26	304,00	67,6g	13,4cm
M = $296,98 \pm 7,50$		M = $72,50 \pm 11,06$ g	M = $14,01 \pm 0,80$ cm

Observou-se que, por exemplo, o rato 9 apresentou peso (57,1g) baixo em relação a média e também CNA (12,9 cm) abaixo da média. Como outro exemplo, o rato 16 apresentou peso (96g) elevado em relação a média e também CNA (15,2 cm) acima da média.

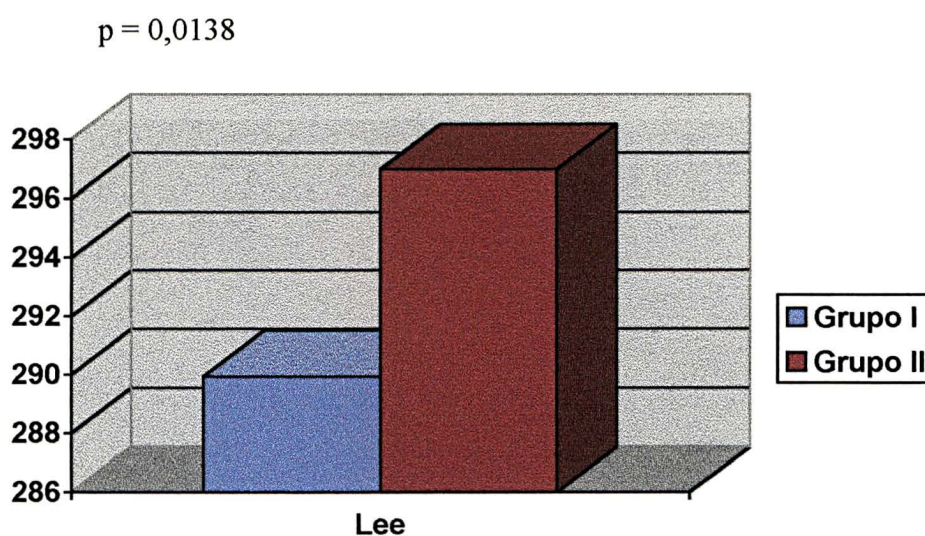
Neste grupo, também observou-se variação relativamente ampla de peso e CNA.

FIGURA 4 – RATO *WISTAR* INJETADO COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO-AOS 30 DIAS DE VIDA.

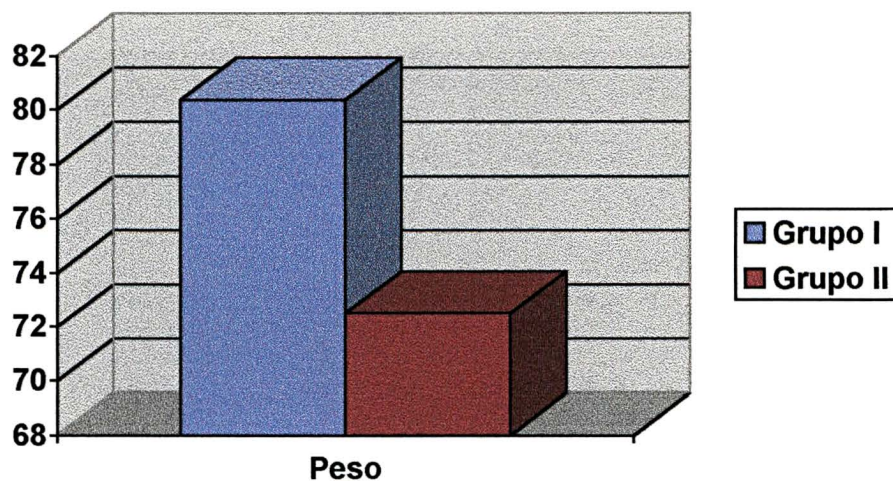


No gráfico 1, estão representados os respectivos índices de Lee médios de cada grupo. O grupo II, submetido ao MSG, apresentou índice de Lee médio aos 30 dias de vida de $296,98 \pm 7,50$, estatisticamente mais elevado que o do grupo submetido à solução salina, grupo I, que foi de $289,94 \pm 11,57$ ($p = 0,0138$), portanto, obteve-se com sucesso a indução da obesidade com o MSG.

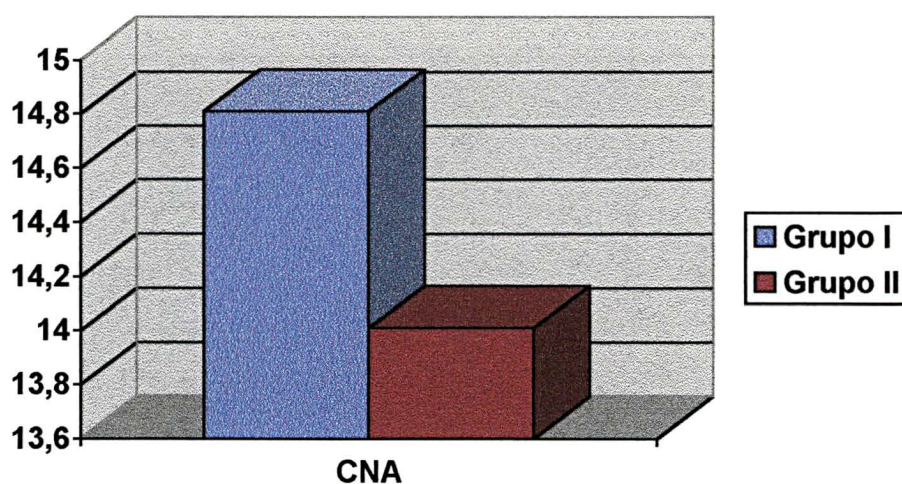
GRÁFICO 1 – GRUPOS I E II - ÍNDICE DE LEE MÉDIO AOS 30 DIAS DE VIDA



No gráfico 2, estão representados os respectivos pesos médios de cada grupo. Aos 30 dias de vida, o peso médio dos animais submetidos a injeção com solução salina, grupo I, foi de $80,37 \pm 19,98$ g, semelhante estatisticamente ao peso médio dos animais submetidos a injeção de MSG, grupo II, que foi de $72,50 \pm 11,06$ g ($p = 0,0873$).

GRÁFICO 2 – GRUPOS I E II - PESO MÉDIO AOS 30 DIAS DE VIDA $p = 0,0873$ 

No gráfico 3, estão representados os respectivos CNA médios de cada grupo. Aos 30 dias de vida, o CNA médio dos animais submetidos a injeção de solução salina, grupo I, foi de $14,81 \pm 1,27$ cm, estatisticamente maior que o dos animais submetidos a injeção de MSG, grupo II, que foi de $14,01 \pm 0,80$ cm ($p = 0,0107$).

GRÁFICO 3 – GRUPOS I E II - CNA MÉDIO AOS 30 DIAS DE VIDA $p = 0,0107$ 

5 DISCUSSÃO

A grande vantagem do modelo experimental com injeção de MSG em ratos, na fase neonatal, é de que o MSG destrói seletivamente os neurônios próximos ao ARC, ao contrário de eletrotermocoagulação que lesa axônios próximos desta região (MISKOWIAK & PARTYKA, 1993).

Neste estudo, no grupo II, nas injeções subcutâneas na região cervical posterior, foram utilizadas soluções de MSG na concentração de 24%, uma vez ao dia, nos primeiros cinco dias de vida. Esta concentração foi obtida na extensa literatura a respeito e que apresenta este quantitativo como ideal (SERESS, 1982; NASCIMENTO CURI et al., 1991; RIBEIRO et al., 1989; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b; HIRATA et al., 1997; MISKOWIAK & PARTYKA, 1993; NEMEROFF et al., 1977; HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986; DAWSON et al., 1997; SCLAFANI, 1987; KUBOTA et al., 1994; ZHANG et al., 1994; MARMO et al., 1994).

No grupo I, nas injeções na região cervical posterior foram utilizadas soluções salinas na concentração de 12,5%, nos primeiros cinco dias de vida, também, baseado na literatura (NASCIMENTO CURI et al., 1991; DAWSON et al., 1997; SCLAFANI, 1987).

O MSG e a solução salina, como preconizada pela literatura, nos casos de injeção em roedores, não há necessidade de esterilização das referidas soluções. A anti-sepsia no local da injeção com PVPI e agulha e seringa estéreis são suficientes para uma injeção relativamente segura. Em nosso estudo não houveram quaisquer complicações nos locais de injeção das substâncias. Não observou-se hiperemia, supuração, edema ou necrose tecidual no local de injeção após a mesma.

O índice de Lee pode ser utilizado para indicar o grau de obesidade (SERESS, 1982; NEMEROFF et al., 1977; BERNARDIS & PATTERSON, 1968). Lee (1929), citado por Bernardis e Patterson, considerou como uma proporção nutricional baseada no peso e CNA, considerando como valor normal o índice de 0,300 para ratos Holtzman desmamados (BERNARDIS & PATTERSON, 1968). Este índice foi multiplicado pelo fator 1000 por Szentagothai et al. (1962).

A correlação do índice de Lee com a percentagem de gordura corporal foi determinada pelo método de Han (1965), citado por Bernardis e Patterson, com cálculos de coeficientes e de regressão linear. Sugeriu-se que o índice de Lee pode ser utilizado como um índice de

obesidade razoavelmente preciso e de rápida obtenção (BERNARDIS & PATTERSON, 1968).

No Laboratório de Biologia Celular da Secreção da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá - Pr., utiliza-se, pelo menos em parte, os parâmetros de variação de análise biométrica de *Rattus Norvegicus* de linhagem *Wistar* publicadas por Hossne et al., 1986/1987.

O índice de Lee é a razão da raiz cúbica do peso corporal (em gramas) sobre o comprimento nasoanal (em centímetros). É um índice de massa corpórea que pode ser aplicada a roedores, obtendo-se com relativa precisão o percentual de gordura corporal do animal. Vários autores correlacionaram este índice ao percentual de gordura corporal através de estudo de carcassa dos animais. Mesmo que ocorra grandes variações de peso e CNA, como em nosso estudo, o índice de Lee permanece resultado da relação dos mesmos, desde que a variação ocorra na mesma tendência. Portanto, peso abaixo da média acompanhado de CNA abaixo da média determinam um índice de Lee que pode estar na média ou acima dela (SERESS, 1982; NEMEROFF et al., 1977; NEMEROFF et al., 1978; HAMAOKA & KUSUNOKI, 1986; BERNARDIS & PATTERSON, 1968; CHIKAMORI et al., 1977; INOUE & BRAY, 1977; HOSSNE et al., 1986/87). Animais com baixo peso e reduzido CNA podem ser obesos ou não, o que será determinado pelo percentual de gordura corporal. Desta forma, baixo peso não implica necessariamente em não estar obeso. O oposto também é verdadeiro.

Portanto, peso e CNA baixos não implicam em estar magro, mas podem estar representando redução do esqueleto do animal.

O índice de Lee não é um método perfeito e absoluto para determinação do percentual de gordura corporal do roedor. O ideal seria a mensuração direta do percentual de gordura da carcassa após sacrifício do animal. Em caso de não se realizar o sacrifício, haveriam outros métodos para detecção mais precisa do percentual de gordura, como, por exemplo, densitometria, ultra-sonografia, tomografia computadorizada, ressonância magnética ou impedância bioelétrica. Como em nosso meio não se dispõe facilmente de métodos sofisticados como estes anteriormente mencionados e não fez parte da metodologia deste trabalho o sacrifício dos animais nesta fase do experimento, optou-se, com razoável precisão, pelo índice de Lee.

Com o índice de Lee determinamos a obesidade, mesmo que não seja um método absolutamente preciso.

O CNA, representa a mensuração da estatura do animal, do esqueleto do roedor. Obviamente, o peso dependerá tanto da massa gordurosa quanto do esqueleto do animal.

Neste estudo, os animais injetados com MSG na fase neonatal, aos 30 dias de vida apresentaram um índice de Lee superior aos animais do grupo controle. Caracterizou-se, portanto, que os ratos injetados com MSG apresentaram maior acúmulo de gordura corporal.

O MSG quando injetado na fase neonatal em ratos, sem dúvida provoca obesidade aos 30 dias de vida.

Neste estudo, o peso médio dos animais dos grupos I e II não apresentou diferença com significância estatística. Mas, observando-se os respectivos valores, que foram de $80,37 \pm 19,98$ g e $72,50 \pm 11,06$ g, e analisando-se a tendência estatística para diferença ($p = 0,0873$), pôde-se inferir que os ratos injetados com MSG tiveram a tendência de apresentarem menor peso.

O menor peso destes animais não quer dizer que eles são mais magros. Este fenômeno é devido ao efeito do MSG no esqueleto, causando sua redução. Embora não tenham sido aqui dosados, a explicação referida na literatura é que ocorre uma redução dos níveis de GH circulantes e uma redução da sensibilidade dos receptores nos tecidos periféricos para este hormônio (DOLNIKOFF et al., 1988; MISKOWIAK & PARTIKA, 1993; SHAPIRO et al., 1986; DePAOLO & STEGER, 1985; SHAPIRO et al., 1993).

Pelos resultados obtidos, pôde-se comprovar que os animais submetidos a injeção de MSG na fase neonatal, apresentaram menor comprimento nasoanal aos 30 dias, quando comparados aos ratos do grupo controle.

O menor comprimento nasoanal dos animais do grupo II representa a menor estatura e, consequentemente, menor do tamanho do esqueleto do rato. Da mesma forma que para o peso, a explicação para este fato estaria alicerçada na interferência do MSG na secreção do GH e na sua ação periférica, interferindo com a ligação do GH e seu receptor (KANAREK & MARKS-KAUFAMAN, 1981; KUBOTA et al., 1994).

Neste estudo, observou-se que os animais injetados com MSG foram menores (menor comprimento nasoanal) e tenderam a ser mais leves (menor peso), com um percentual de gordura corporal maior (obesos) que o dos animais do grupo controle (grupo I).

Nos modelos experimentais de obesidade induzida em que existe algum tipo de lesão no SNC, o mecanismo comum seria a hiperinsulinemia de jejum e aumento de tecido adiposo (INOUE & BRAY, 1977), como é a situação do modelo com MSG (CHIKAMORI et al., 1977; SILVA, 1995).

O nervo vago é considerado importante como via eferente na obesidade induzida pela lesão do hipotálamo (KING & FROHMAN, 1982; POWLEY & OPSAHL, 1976).

Sabe-se que a inervação do vago no pâncreas é fundamental para uma fisiológica resposta das células β pancreáticas à glicose plasmática (MILLER, 1981).

A estimulação do nervo vago em cães promove aumento de concentração de glucagon na veia porta e, no pâncreas, a inervação do vago também é responsável pela resposta de secreção fisiológica de glucagon à glicose plasmática (MILLER, 1981).

No homem, o reflexo pancreático-oral provavelmente é mediado, principalmente, via neural e por hormônios gastrointestinais (MILLER, 1981).

Como existe uma resposta dependente do sexo do animal no desenvolvimento da obesidade induzida, neste trabalho, optou-se pela amostra exclusivamente composta por ratos machos (HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976a; HOLZWARTH-McBRIDE et al., 1976b; NASCIMENTO CURI et al., 1991).

No ratos com lesão bilateral de VMH, observa-se hiperfagia, ao contrário dos ratos com lesão pelo MSG que são normofágicos ou hipofágicos (KANAREK & MARKS-KAUFMAN, 1981; NEMEROFF et al., 1977).

Resultados não publicados de uma das linhas de pesquisa do Laboratório de Biologia Celular da Secreção do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá, demonstraram que ratos submetidos a injeção de MSG na fase neonatal eram hiperfágicos e não normo ou hipofágicos como relatado na literatura. Isto foi constatado quando foi estabelecida a relação peso do animal com o consumo alimentar.

Neste modelo experimental ocorre uma redução dos níveis de GH e de sua ação periférica. Sabendo-se que o GH é um hormônio lipolítico, a sua redução nestes animais contribuiria para maior acúmulo de gordura corporal. Questionar-se-ia a verdadeira importância da participação da hiperinsulinemia na gênese da obesidade nestes animais MSG injetados. Esta suspeita poderia ser melhor elucidada com a interrupção da condução do estímulo parassimpático para as ilhotas pancreáticas. Neste caso, a sugestão de estudar-se o efeito da vagotomia troncular subdiafragmática neste modelo seria de inestimável valor. Da

mesma forma, os efeitos da administração de GH no acúmulo de gordura destes animais injetados com MSG durante o crescimento dos mesmos, também seria uma possibilidade a ser questionada.

Considerando-se a importância da inervação do vago neste modelo experimental, futuramente, poder-se-ia estudar o efeito da vagotomia troncular subdiafragmática na redução da hiperinsulinemia, na redução da lipogênese, no aumento da lipólise e na hipofagia.

Questionar-se-ia também a possível interrupção do mecanismo de “feedback” entre estímulos periféricos e núcleos centrais, com redução dos níveis de leptina e NPY circulantes, através da vagotomia troncular (DAWSON et al., 1997).

Há necessidade, portanto, de mais estudos para poder determinar-se a real importância da via vagal nestes modelos experimentais de obesidade induzida e investigar-se a correlação desta via na obesidade humana.

O modelo experimental de obesidade induzida em ratos através do MSG, pode ser utilizado em vários estudos. Dentre estes, os efeitos da vagotomia troncular subdiafragmática na evolução desta obesidade induzida, trabalho este que está em andamento no Laboratório Biologia Celular da Secreção do Departamento de Biologia Celular e Genética da UEM.

Este mesmo modelo de obesidade com MSG, também pode ser utilizado no estudo dos efeitos do *by pass* jejunoileal na evolução da obesidade, dos efeitos da ressecção intestinal na evolução da obesidade, dos efeitos do *by pass* jejunoileal sobre a mucosa intestinal, cólica e retal, e outros.

6 CONCLUSÕES

1 – A injeção do glutamato monossódico em ratos na fase neonatal, aos 30 dias de vida, induz obesidade.

2 – O glutamato monossódico produz alterações biométricas com redução do comprimento do animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMO, N.J.; RATNER, A. Monosodium glutamate: lack of effects on brain and reproductive function in rats. **Science**, v.14, n.169(946), p.673-674, Aug.1970.
2. ARNDT, T.; REFOREK, A.; MULLER, F. Assessment of cold induced alterations in catecholamine turnover of lean and glutamate-treated obese rats. **Exp. Clin. Endocrinol.**, v.98(3), p.207-211, 1991.
3. ATEF, N.; KTORZA, A.; PICON, L.; PÉNICAUD, L. Increased islet blood flow in obese rats: role of the autonomic nervous system. **Am. J. Physiol.**, v.262(5 PT 1), p.E 736-E 740, May 1992.
4. ATEF, N.; KTORZA, A.; PÉNICAUD, L. CNS involvement in the glucose induced increase of islet blood flow in obese Zucker rats. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.19(2), p.103-107, Feb. 1995.
5. BERTHOUD, H.-R.; JEANRENAUD, B. Acute hyperinsulinemia and its reversal by vagotomy after lesions of the ventromedial hypothalamus in anesthetized rats. **Endocrinology**, v.105(1), p.146-151, July 1979.
6. BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D. Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **J. Endocrinol.**, v.40(4), p.527-528, Apr. 1968.
7. BÉTRAN, M.A.; ESTORNELL, E.; BARBER, T.; CABO, J. Nitrogen metabolism in obesity induced by monosodium L-glutamate in rats. **Int. J. Relat. Obes. Metab. Disord.**, v.16(8), p.555-564, Aug. 1992.
8. BRAY, G.A.; YORK, D.A. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. **Physiol. Rev.**, v.59(3), p.719-809, July 1979.
9. BRAY, G.A. Obesity, a disorder of nutrient partitioning: the Monalisa hypothesis. **J. Nutr.**, v.121(8), p.1146-1162, Aug. 1991.
10. CAMERON, D.P.; CUTBUSH, L.; OPAT, F. Effects of monosodium glutamate-induced obesity in mice on carbohydrate metabolism in insulin secretion. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.5(1), p.41-51, Jan./Feb. 1978.
11. CAMPFIELD, L.A.; SMITH, F.J. Alteration of islet neurotransmitter sensitivity following ventromedial hypothalamic lesion. **Am. J. Physiol.**, v.244(5), p.R635-R640, May 1983.
12. CHIKAMORI, K.; MASUDA, K.; ISUMI, H.; ISAKA, K.; TEZUKA, U. Effect of vagotomy on hyperinsulinemia in obese rats with hypothalamic lesions. **Endocrinol. Jpn.**, v.24(3), p.251-258, June 1977.

13. DAWSON, R.; PELLEYMOUNTER, M.A.; MILLARD, W.J.; LIU, S.; EPPLER, B. Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. **Am. J. Physiol.**, v.273(1 PT 1), p.E202-E206, July 1997.
14. DeLUCA, R.R.; ALEXANDRE, S.R.; MARQUES, T.; SOUZA, N.L.; MERUSSE, J.L.B.; NEVES, S.P. **Manual para técnicos em bioterismo**, 2.ed. São Paulo : Winner Graph, 1996.
15. DePAOLO, L.V.; STEGER, R.W. Alterations in immunoreactive somatostatin levels in hypothalamic and gastropancreatic tissue as a consequence of neonatal treatment with monosodium glutamate. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.178(3), p.419-425, Mar. 1985.
16. DOLNIKOFF, M.S.; KATER, C.E.; EGAMI, M.; ANDRADE, I.S.; MARMO, M.R. Neonatal treatment with monosodium glutamate increases plasma corticosterone in the rats. **Neuroendocrinology**, v.48(6), p.645-649, Dec.1988.
17. FISHER, K.N.; TURNER, R.A.; PINEAULT, G.; KLEIM, J.; SAARI, M.J. The postweaning housing environment determines expression of learning deficit associated with neonatal monosodium glutamate (M.S.G.). **Neurotoxicol. Teratol.**, v.13(5), p.507-513, Sep./Oct. 1991.
18. FRANKISH, H.M.; DRYDEN, S.; HOPKINS, D.; WANG, Q.; WILLIAMS, G. Neuropeptide Y, the hypothalamus, and diabetes: insights into the central control of metabolism. **Peptides**, v.16 (4), p.757-771, 1995.
19. FRIEDER, B.; GRIMM, V.E. Prenatal monosodium glutamate (MSG) treatment given through the mother's diet causes behavioral deficits in rat offspring. **Int. J. Neurosci.**, v.23(2), p.117-126, Apr.1984.
20. GOLD, R.M.; SAWCHENKO, P.E.; deLUCA, C.; ALEXANDER, J.; ENG, R. Vagal mediation of hypothalamic obesity but not of supermarket dietary obesity. **Am. J. Physiol.**, v.238(5), p.R 447-R 453, May 1980.
21. HALPERN, A. AND MANCINI, M.C. Obesidade: como diagnosticar e tratar. **Rev. Bras. Med.**, v.53, p.77-85, Dez.1996.
22. HAMAOKA, K. AND KUSUNOKI, T. Morphological and cell proliferative study on the growth of visceral organs in monosodium L-glutamate-treated obese mice. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, v.32(4), p.395-411, Aug. 1986.
23. HIRATA, A.E.; ANDRADE, I.S.; VASKEVICIUS, P.; DONIKOFF, M.S. Monosodium glutamate (MSG) – obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.30 (5), p.671-674, May 1997.
24. HOLZWARTH-McBRIDE, M.A.; HURST, E.M.; KNIGGE, K.M. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. I. Endocrine deficiency and ultrastructure of the median eminence. **Anat. Rec.**, v.186(2), p.185-196, Oct. 1976a.

25. HOLZWARTH-McBRIDE, M.A.; SLADEK Jr., J.R.; KNIGGE, K.M.
Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. II. Fluorescence histochemistry of catecholamines. **Anat. Rec.**, v.186(2), p.197-205, Oct. 1976b.
26. HOSSNE, W.S.; SPADELLA, C.T.; BACCHI, C.E. Estudo biométrico de comprimento, peso corpóreo e peso dos órgãos em animais de experimentação biomédica. I. Rato. **Rev. Ciênc. Bioméd.**, v.7/8, p.1-19, 1986/1987.
27. INOUE, S.; BRAY, G.A. The effects of subdiaphragmatic vagotomy in rats with ventromedial hypothalamic obesity. **Endocrinology**, v.100(1), p.108-114, Jan.1977.
28. JEANRENAUD, B. An hypothesis on the aetiology of obesity: dysfunction of the central nervous system as a primary cause. **Diabetologia**, v.28(8), p.502-513, Aug.1985.
29. KANAREK, R.B.; MARKS-KAUFMAN, R. Increased carbohydrate consumption induced by neonatal administration of monosodium glutamate to rats. **Neurobehav. Toxicol. Teratol.**, v.3(3), p.343-350, Fall 1981.
30. KIBA, T.; TANAKA, K.; INOUE, S.; ENDO, O.; TAKAMURA, Y. Comparison of DNA contents of visceral organs in rats with ventromedial hypothalamic lesions and fed a high fat diet. **Neurosci. Lett.**, v.27, n.126(2), p.127-130, May 1991.
31. KING, B.M.; FROHMAN, L.A. The role of vagally-mediated hyperinsulinemia in hypothalamic obesity. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v.6(2), p.205-214, Summer 1982.
32. KUBOTA, A.; NAKAGAWA, Y.; IGARASHI, Y. Studies of gene expression in liver of insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3 and growth hormone (GH) receptor/GH binding protein in rats treated neonatally with monosodium glutamate. **Horm. Metab. Res.**, v.26(11), p.497-503, Nov.1994.
33. MACHADO, U.F.; SHIMIZU, I.; SAITO, M. Reduced content and preserved translocation of glucose transporter (GLUT 4) in white adipose tissue of obese mice. **Physiol. Behav.**, v.55(4), p.621-625, Apr.1994.
34. MAITER, D.; UNDERWOOD, L.E.; MARTIN, J.B.; KOENIG, J.I. Neonatal treatment with monosodium glutamate: effects of prolonged growth hormone (GH)-releasing hormone deficiency on pulsatile GH secretion and growth in female rats. **Endocrinology**, v.128(2), p.1100-1106, Feb. 1991.
35. MARMO, M.R.; DOLNIKOFF, M.S.; KETTELHUT, I.C.; MATSUSHITA, D.M.; HELL, N.S.; LIMA, F.B. Neonatal monosodium glutamate treatment increases epididymal adipose tissue sensitivity to insulin in three-month old rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.27(5), p.1249-1253, May 1994.
36. MILLER, R.E. Pancreatic neuroendocrinology: peripheral neural mechanisms in the regulation of the islets of Langerhans. **Endocr. Rev.**, v.2(4), p.471-494, Fall 1981.

37. MISKOWIAK, B.; PARTIKA, M. Effects of neonatal treatment with MSG (Monosodium glutamate) on hypothalamo-pituitary-thyroid axis in adult male rats. **Histol. Histopathol.**, v.8(4), p.731-734, Oct. 1993.
38. NASCIMENTO CURI, C.M.O.; MARMO, M.R.; EGAMI, M.; RIBEIRO, E.B.; ANDRADE, I.S.; DOLNIKOFF, M.S. Effect of monosodium glutamate treatment during neonatal development on lipogenesis rate and lipoprotein lipase activity in adult rats. **Biochem. Int.**, v.24(5), p.927-935, Jul. 1991.
39. NAKAMURA, K. Effect of monosodium L-glutamate on the morphogenesis of newborn rats. **Arch. Anat. Pathol.**, v.23(4), p.303-311, Dec. 1975.
40. NEMEROFF, C.B.; GRANT, L.D.; BISSETTE, G.; ERVIN, G.N.; HARREL, L.E.; PRANGE JR., A.J. Growth, endocrinological and behavioral deficits after monosodium L-glutamate in the neonatal rat: possible involvement of arcuate dopamine neuron damage. **Psychoneuroendocrinology**, v.2(2), p.179-196, 1977.
41. NEMEROFF, C.B.; LIPTON, M.A.; KIZER, J.S. Models of neuroendocrine regulation: use of monosodium glutamate as an investigational tool. **Dev. Neurosci.**, v.1(2), p.102-109, 1978.
42. OCHI, M.; SAWADA, T.; KUSUNOKI, T.; HATTORI, T. Morphology and cell dynamics of adipose tissue in hypothalamic obese mice. **Am. J. Physiol.**, v.254 (5 Pt 2), p. R740-R745, May 1988.
43. OTOYA, R.E.; SELTZER, A.M.; DONOSO, A.O. Decrease of (+) -3-[¹²⁵I]MK-801 binding to NMDA brain receptors revealed at puberty in rats treated neonatally with monosodium glutamate. **Brain Res. Dev. Brain Res.**, v.2, n.95(2), p.149-156, Sep. 1996.
44. PAPA, P.C.; SERAPHIM, P.M.; MACHADO, U.F. Loss of weight restores GLUT 4 content in insulin-sensitive tissues of monosodium glutamate-treated obese mice. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.21(11), p.1065-1070, Nov. 1997.
45. PEREIRA, R.A. Avaliação antropométrica do estado nutricional. In: SICHIERI, R. **Epidemiologia da obesidade**. Rio de Janeiro : EdUERJ, 1998. p. 43-64.
46. POWLEY, T.L.; OPSAHL, C.A. Autonomic components of the hypothalamic feeding syndromes. In: NOVIN, D.; WYRWICKA, W.; BRAY, G. **Hunger: Basic Mechanisms and Clinical Implications**. New York : Raven Press, 1976. p. 313-326.
47. REMKE, H.; WILSDORF, A.; MULLER, F. Development of hypothalamic obesity in growing rats. **Exp. Pathol.**, v.33(4), p.223-232, 1988.
48. REMKE, H.; WILSDORF, A.; REHOREK, A. Changes of ATPase activities in erythrocytes of rats with hypothalamic obesity. **Exp. Pathol.**, v.43(1-2), p.67-73, 1991.

49. REYNOLDS, W.A.; LEMKEY-JOHNSTON, N.; FILER Jr., L.J.; PITKIN, R.M.
Monosodium glutamate: absense of hypothalamic lesions after ingestion by newborn primates. **Science**, v.25, n.172(990), p.1342-1344, June 1971.
50. RIBEIRO, E.B.; MARMO, M.R.; ANDRADE, I.S.; DOLNIKOFF, M.S. Effect of fasting on monosodium glutamate-obese rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.22(7), p.917-921, 1989.
51. RIBEIRO, S.M.L.; CAMPOS, P.; TIRAPEGUI, J. O rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo**, v.31, p.21-28, 1995.
52. ROHNER-JEANRENAUD, F.; HOCHSTRASSER, A.C.; JEANRENAUD, B.
Hyperinsulinemia of preobese and obese *fa/fa* rats is partly vagus nerve mediated. **Am. J. Physiol.**, v.244(4), p.E317-E322, Apr.1983.
53. ROHNER-JEANRENAUD, F. AND JEANRENAUD, B. Involvement of the cholinergic system in insulin and glucagon oversecretion of genetic preobesity. **Endocrinology**, v.116(2), p.830-834, Feb.1985.
54. ROHNER-JEANRENAUD, F.; CUSIN, J.; GUILLAUME-GENTIL, C.; TERRETAZ, J.; JEANRENAUD, B. Role of the autonomic nervous system in obesity and type II diabetes in rodents. In: BELFIORE, F.; JEANRENAUD, B.; PAPALIA, D. **Frontiers in Diabetes. Obesity: Basic concepts and clinical aspects**. Geneva, Switzerland : S. Karger, Basel, 1992. v.11. p.151-156.
55. ROHNER-JEANRENAUD, F. A neuroendocrine reappraisal of the dual-centre hypothesis: its implications for obesity and insulin resistance. In: ----- **International Journal of Obesity**. Geneva, Switzerland : Stockton Press, 1995. v.19. p.517-534.
56. SAINSBURY, A.; ROHNER-JEANRENAUD, F.; CUSIN, I.; ZAKRZEWSKA, K.E.; HALBAN, P.A.; GAILLARD, R.C.; JEANRENAUD, B. Chronic central neuropeptide Y infusion in normal rats: status of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis, and vagal mediation of hyperinsulinaemia. **Diabetologia**, v.40(11), p.1269-1277, Nov.1997.
57. SCALLET, A.C. AND OLNEY, J.W. Components of hypothalamic obesity: bipiperidyl-mustard lesions add hyperphagia to monosodium glutamate-induced hyperinsulinemia. **Brain Res.**, v.28, n.374(2), p.380-384, May 1986.
58. SCLAFANI, A. The role of hyperinsulinemia and the vagus nerve in hypothalamic hyperphagia reexamined. **Diabetologia**, v.20 suppl., p.402-410, Mar.1981.
59. SCLAFANI, A. Effects of gastrointestinal surgery on ingestive behavior in animals. **Gastroenterol. Clin. North Am.**, v.16(3), p.461-477, Sep.1987.

60. SERESS, L. Divergent effects of acute and chronic primary monosodium L-glutamate treatment on the anterior and posterior parts of the arcuate nucleus. **Neuroscience**, v.7(9), p.2207-2216, 1982.
61. SHAPIRO, B.H.; ALBUCHER, R.C.; MACLEOD, J.N.; BITAR, M.S. Normal levels of hepatic drug-metabolizing enzymes in neonatally induced, growth hormone-deficient adult male and female rats. **Drug. Metab. Dispos.**, v.14(5), p.585-589, Sep./Oct.1986.
62. SHAPIRO, B.H.; PAMPORI, N.A.; RAM, P.A.; WAXMAN, D.J. Irreversible suppression of growth-dependent cytochrome P450 2C11 in adult rats neonatally treated with monosodium glutamate. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.265(2), p.979-984, May 1993.
63. SICHIERI, R. Medidas e determinantes da obesidade. In: ----- **Epidemiologia da obesidade**. Rio de Janeiro : EdUERJ, 1998. p. 15-42.
64. SILVA, A.C.M. **Obesidade hipotalâmica induzida por glutamato monossódico: alterações pancreáticas**. Maringá, 1995. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá.
65. SMITH, P.H.; PORTE, Jr., D. Neuropharmacology of the pancreatic islets. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v.16, p.269-285, 1976.
66. SNOWDON, C.T. AND EPSTEIN, A.N. Oral and intragastric feeding in vagotomized rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v.71(1), p.59-67, Apr.1970.
67. SUN, Y.M.; HSU, H.K.; LUE, S.I.; PENG, M.T. Sex-specific impairment in sexual and ingestive behaviors of monosodium glutamate-treated rats. **Physiol. Behav.**, v.50(5), p.873-880, Nov. 1991.
68. TANAKA, K.; SHIMADA, M.; NAKAO, K.; KUSUNOKI, T. Hypothalamic lesion induced by injection of monosodium glutamate in suckling period and subsequent development of obesity. **Exp. Neurol.**, v.62(1), p.191-199, Oct. 1978.
69. YOSHIOKA, K.; YOSHIDA, T.; KONDO, M. Reduced brown adipose tissue thermogenesis and metabolic rate in pre-obese mice treated with monosodium-L-glutamate. **Endocrinol. Jpn.**, v.38(1), p.75-79, Feb. 1991.
70. ZHANG, W.M.; KUCHAR, S.; MOZES, S. Body fat and RNA content of the VMH cells in rats neonatally treated with monosodium glutamate. **Brain Res. Bull.**, v.35(4), p.383-385, 1994.